

***Materialvergleichsuntersuchungen ausgewählter
Rauschgifte mittels Kapillarelektrophorese-Elektrospray-
Ionisations- und mittels Gaschromatographie-
Elektronenstoß-Ionisations-Massenspektrometrie***

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Frau Dipl.-Ing. Susanne Dieckmann

Geburtsort: Darmstadt

Marburg an der Lahn, 2015

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am 28.04.2015
angenommen.

Erstgutachterin: Frau Prof. Dr. U. Pyell

Zweitgutachterin: Frau Prof. Dr. C. Weyermann

Drittgutachter: Herr Prof. Dr. N. Hampp

Eingereicht am 04.03.2015

Tag der mündlichen Prüfung am 30.04.2015

Hochschulkennziffer: 1180

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole	iv
Abbildungsverzeichnis	vii
Tabellenverzeichnis	x
1 Einleitung	1
2 Aufgabenstellung	3
3 Grundlagen	5
3.1 Betäubungsmittel und Zusatzstoffe verschiedener Substanzklassen	5
3.1.1 Beta-Phenylethylamine	5
3.1.2 Methadon	10
3.1.3 Heroin	11
3.1.4 Kokain	11
3.1.5 Tetramisol	13
3.2 Rauschgiftmaterialvergleich	13
3.3 Analysemethoden	16
3.3.1 Gaschromatographie	16
3.3.2 Kapillarelektrophorese	18
3.3.3 Massenspektrometrie	24
3.4 Chemometrische Datenauswertung	26
3.4.1 Lineare Regression	26
3.4.2 Clusteranalyse	29
3.4.3 Hauptkomponentenanalyse (PCA)	30
4 Untersuchung kontrolliert synthetisierter MDMA-Proben mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie	36
4.1 Durchführung	37
4.1.1 Probenvorbereitung	37
4.1.2 GC-MS-Methode	38
4.1.3 Datenbehandlung und statistische Auswertung	38
4.1.4 Validierung	40
4.1.5 Untersuchte Proben	41
4.1.6 Synthese von MDMA	43
4.2 Ergebnisse und Diskussion	45
4.2.1 Änderung des chemischen Profils der resultierenden MDMA-Salze bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel bei der reduktiven Aminierung	45

4.2.2	Reduktive Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff-Änderung des chemischen Profils von MDMA bei unterschiedlichen Synthesebedingungen.....	50
4.2.3	Änderung des chemischen Profils der resultierenden MDMA-Salze bei unterschiedlichen Fällungsbedingungen.....	76
5	Chirale Identifizierung von Rauschgiften, Zusatzstoffen und Verunreinigungen mittels Kapillarelektrophorese-ESI-Massenspektrometrie	86
5.1	Durchführung.....	87
5.1.1	Optimierung der Massenspektrometereinstellungen.....	87
5.1.2	Optimierung der chiralen Trennung.....	87
5.2	Ergebnisse und Diskussion	88
5.2.1	Methodenentwicklung.....	88
5.2.2	Validierung.....	104
5.2.3	Identifizierung chiraler Rauschgifte, Zusatzstoffe und Verunreinigungen.....	112
6	Achirale Identifizierung und Quantifizierung von Rauschgiften und Zusatzstoffen	118
6.1	Durchführung.....	118
6.1.1	Quantifizierung	118
6.1.2	Analysemethode.....	119
6.2	Ergebnisse und Diskussion	120
6.2.1	Synephrinquantifizierung.....	120
6.2.2	Identifizierung einer unbekannten Designerdroge.....	122
7	Materialvergleich am Beispiel von Metamfetamin (Yaba-Tabletten)	127
7.1	Durchführung.....	128
7.1.1	Chirale CE-ESI-MS-Methode.....	128
7.1.2	Chirale CE-Methode	129
7.1.3	GC-MS-Methode für MA	131
7.2	Ergebnisse und Diskussion	132
7.2.1	Materialvergleich mittels Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie	132
7.2.2	Materialvergleich mittels Kapillarelektrophorese.....	134
7.2.3	Materialvergleich mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie	139
7.2.4	Methodenvergleich.....	141
8	Materialvergleich verschiedener Rauschgifte mittels Kapillarelektrophorese-ESI-Massenspektrometrie.....	142
8.1	Durchführung.....	142
8.1.1	Analysemethode.....	142
8.1.2	Die Software ProfileAnalysis.....	143
8.2	Ergebnisse und Diskussion	144
8.2.1	Chemometrische Auswertung für Heroinproben	145
8.2.2	Chemometrische Auswertung für Kokainproben	150

9	Zusammenfassung	153
10	Summary	155
11	Literaturverzeichnis.....	157
12	Anhang	162
12.1	Geräte	162
12.1.1	CE-ESI-MS-System I:.....	162
12.1.2	CE-ESI-MS-System II:	163
12.1.3	CE-System:	163
12.1.4	GC-MS-System I.....	164
12.1.5	GC-MS-System II	164
12.2	Software	164
12.2.1	CE-ESI-MS-System I:.....	164
12.2.2	CE-ESI-MS-System II:	165
12.2.3	CE-System:	165
12.2.4	GC-MS-System I:	165
12.2.5	GC-MS-System II:	165
12.3	Chemikalien	166
12.4	Proben	167
12.5	Targetliste für das Metamfetaminprofiling mittels GC-MS	167
12.6	Strukturformeln der für den MDMA-Materialvergleich mittels GC-MS relevanten Targetkomponenten.....	168
12.7	Kalibriergeraden zur Linearitätsüberprüfung für die chirale CE-ESI-MS- Methode.....	170
13	Danksagung.....	178
14	Wissenschaftlicher Werdegang	180

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

°C	Grad Celsius
μ	Elektrophoretische Mobilität
μA	Mikroampere
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μmol	Mikromol
Al ₂ O ₃	Aluminiumoxid
A-Term	Einfluss der Streudiffusion
AU	Absorbance Unit
B-Term	Diffusion der Analyte in Strömungsrichtung
CE	Kapillarelektrophorese
CE-ESI-MS	Kapillarelektrophorese-Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie
CHAMP	Collaborative Harmonisation of Methods for Profiling of Amphetamine type stimulants
cm	Zentimeter
C-Term	Zusammengesetzter Massentransportwiderstand
CZE	Kapillarzonenlektrophorese
DAD	Dioden Array Detektor
DNA	Desoxyribonukleinsäure
e	Elementarladung
E	Angelegte Feldstärke
EOF	Elektroosmotischer Fluss
ESI	Elektrospray-Ionisation
ESI-MS	Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie
FID	Flammenionisationsdetektoren
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HBr	Bromwasserstoffsäure
HCl	Chlorwasserstoffsäure

HgCl ₂	Quecksilber(II)chlorid
HI	Iodwasserstoffsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
ISTD	Interner Standard
kPa	Kilopascal
kV	Kilovolt
L	Liter
LSD	Lysergsäurediethylamin
m	Meter
M	Mol pro Liter
m/z	Masse-Ladung-Verhältnis
MA	Metamfetamin
mAU	Milli Absorbance Unit
mbar	Millibar
MD	Methylendioxy
MDA	Methylendioxyamfetamin
MDEA	Methylendioxyethylamfetamin
MDHOEt	3,4-Methylendioxy-N-(2-hydroxyethyl)-amfetamin
MDMA	Methylendioxymetamfetamin
MDP-2-P	3,4-Methylendioxyphenyl-2-propanon (PMK)
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mol	Mol
MS	Massenspektrometer
MS/MS	Tandemmassenspektrometrie
MS ⁿ	Multiple Massenspektrometrie
N	Anzahl der Messungen
N ₂	Stickstoff
NaBH ₄	Natriumborhydrid

NaOH	Natriumhydroxid
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
NMR	Nuclear Magnetic Resonance, Kernspinresonanz
PC	Prinzipkomponente oder Hauptkomponente
PCA	Hauptkomponentenanalyse
PMK	Piperonylmethylketon, 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanon
psi	Pound-force per square inch
PW	Prüfwert
r	Korrelationskoeffizient, Ionenradius
R	Auflösung
RSD	Relative Standardabweichung
RT	Raumtemperatur
S/N	Signal-zu-Rausch-Verhältnis
SVD	Singulärwertzerlegung
t	Migrationszeit
u	Trägergasgeschwindigkeit
UV	Ultraviolett
V	Volt
v/v	Volumenanteil
w	Peakbasisbreite
z	Ladungszahl
ϵ	Elektrische Durchlässigkeit oder Permission
ζ	Zeta-Potential
η	Viskosität

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1:	Strukturformeln der beta-Phenylethylamine	6
Abbildung 3.2:	Die beiden häufigsten Syntheserouten zur Produktion von illegalem Metamfetamin	8
Abbildung 3.3:	Synthesewege zur Herstellung von MDMA	10
Abbildung 3.4:	Strukturformel Methadon	10
Abbildung 3.5:	Strukturformeln von Heroin und dessen Nebenkompenten	11
Abbildung 3.6:	Übersicht der Strukturformeln von Nebenprodukten und Zusätzen von Kokain	12
Abbildung 3.7:	Strukturformel von beta-Cyclodextrin	22
Abbildung 3.8:	Schematische Darstellung der Trennung kationischer Enantiomere mit Hilfe von neutralen beziehungsweise negativ geladenen Cyclodextrinen	23
Abbildung 3.9:	Aufbau CE-ESI-MS	26
Abbildung 4.1:	Entstehung ausgewählter Targetkomponenten.....	46
Abbildung 4.2:	Einfluss der Reduktionsmittel auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	48
Abbildung 4.3:	Einfluss der Reaktionszeit auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	51
Abbildung 4.4:	Einfluss der Reaktionstemperatur auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	53
Abbildung 4.5:	Einfluss der verwendeten PMK Charge auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	55
Abbildung 4.6:	Einfluss des Drucks auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	57
Abbildung 4.7:	PCA für Proben synthetisiert bei unterschiedlichen Synthesebedingungen.....	59
Abbildung 4.8:	Chromatogramme für den visuellen Vergleich	60
Abbildung 4.9:	Dendrogramm für alle Proben.....	61
Abbildung 4.10:	Hierarchische Clusteranalyse (euklidische Distanzen) für GC und GCxGC Daten	63
Abbildung 4.11:	Verbesserte Trennung durch Verwendung von zweidimensionaler GC	65
Abbildung 4.12:	Reduktive Aminierung von Piperonylmethylketon (PMK) zu MDMA-HCl mittels PtO_2/H_2	66
Abbildung 4.13:	GC-Chromatogramme der MDMA-Basen synthetisiert bei unterschiedlichen Temperaturen	67
Abbildung 4.14:	Bildung von Trimethyl-3,4-MD-chroman und 5-(3,4-MD-phenyl)- 4-methylpent-4-en-2-on	68
Abbildung 4.15:	Ergebnis der Clusteranalyse für alle Proben (MDMA-HCl).....	70
Abbildung 4.16:	Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben innerhalb der jeweiligen Syntheserouten und für Proben innerhalb der Kontrollproben	72
Abbildung 4.17:	Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten	72
Abbildung 4.18:	Hierarchische Clusteranalyse basierend auf den 23 Komponenten	75
Abbildung 4.19:	Dendrogramm für den Einfluss des salzbildenden Anions	78

Abbildung 4.20:	Einfluss des Waschschrilles auf den Gehalt an Targetkomponenten in MDMA-HCl.....	79
Abbildung 4.21:	Dendrogramm für den Einfluss des Waschschrilles	80
Abbildung 4.22:	Dendrogramm zur Beurteilung der Unterschiede	81
Abbildung 4.23:	Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben innerhalb der jeweiligen Syntheserouten und für Proben innerhalb der Kontrollproben	83
Abbildung 4.24:	Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten	84
Abbildung 5.1:	Auftragung der Hilfsflussrate gegen das Signal-zu-Rausch-Verhältnis für Amfetamin	90
Abbildung 5.2:	Auftragung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses gegen den Nebulizerdruck für Amfetamin	91
Abbildung 5.3:	Auftragung der Migrationszeit gegen den Nebulizerdruck für Amfetamin.....	92
Abbildung 5.4:	Massenspuren von Ephedrin und Pseudoephedrin bei einem Nebulizerdruck von 4 psi und 7 psi.....	92
Abbildung 5.5:	Auftragung der Peakhalbwertsbreite gegen die Trockengastemperatur für Amfetamin	93
Abbildung 5.6:	Auftragung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses gegen die Trockengasflussrate für Amfetamin.....	94
Abbildung 5.7:	Massenspuren von Amfetamin bei einer Trockengasflussrate von 4 L/min und von 10 L/min	94
Abbildung 5.8:	Auswirkung von O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte	97
Abbildung 5.9:	Auswirkung von Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte	98
Abbildung 5.10:	Auswirkung von Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte	99
Abbildung 5.11:	Chirale Auflösung von Amfetamin bei Variation der Hochspannung	100
Abbildung 5.12:	Migrationszeit von Amfetamin bei Variation der Hochspannung	101
Abbildung 5.13:	Chirale Basislinientrennung der Modellanalyte	102
Abbildung 5.14:	Electropherogramm CE-DAD-Messung für Tetramisol	103
Abbildung 5.15:	Electropherogramm CE-ESI-MS-Messung für Tetramisol.....	103
Abbildung 5.16:	Analyse einer illegalen Metamfetaminzubereitung unter Verwendung von Kapillar-elektrophorese mit UV-Detektion (mögliche Missinterpretation von Procain als (+)-Amfetamin).....	113
Abbildung 5.17:	Chirale Analyse einer illegalen Metamfetaminzubereitung mittels CE-ESI-MS	114
Abbildung 5.18:	MS/MS-Spektrum von Procain (Identifizierung).....	114
Abbildung 5.19:	CE-ESI-MS-Analyse einer Blutprobe angereichert mit Methadon-d ₉	115
Abbildung 5.20:	Chirale CE-ESI-MS-Analyse der levamisolhaltigen Kokainprobe.....	116
Abbildung 5.21:	MS/MS-Spektrum von Levamisol	116
Abbildung 6.1:	Auftragung der Synephrinkonzentration gegen die Peakfläche	121
Abbildung 6.2:	Auftragung der Synephrinkonzentration gegen die relative Peakfläche	122
Abbildung 6.3:	CE-ESI-MS-Messung der Probe: Massenspuren 194 (MDMA) und 224 (unbekannt).....	123

Abbildung 6.4:	CE-ESI-MS-Messung der Probe: Massenspuren 194 (MDMA) und 224 (unbekannt).....	124
Abbildung 6.5:	Massenspektrum des Signals bei 17,7 Minuten auf der Massenspur 224 m/z.....	124
Abbildung 6.6:	MS/MS-Spektrum von Ion 224.....	125
Abbildung 6.7:	Vermutete Struktur der unbekannten Substanz sowie deren Fragmentierung.....	125
Abbildung 7.1:	Chirale Trennung der fünf beta-Phenylethylamine.....	130
Abbildung 7.2:	Chirale Verunreinigungen in einer MA Probe (Ephedrin und N-Methylephedrin).....	133
Abbildung 7.3:	Unterscheidung zweier MA-Chargen (Yaba) mittels CE-ESI-MS (Faktorenwerte, Scoresplot).....	133
Abbildung 7.4:	Elektropherogramme für drei verschiedene Chargen von Yaba-Tabletten.....	134
Abbildung 7.5:	CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 1.....	135
Abbildung 7.6:	CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 2.....	136
Abbildung 7.7:	CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 3.....	136
Abbildung 7.8:	Metamfetaminhydrochloridprobe (kontrollierte Synthese).....	138
Abbildung 7.9:	Illegal synthetisierte Metamfetaminhydrochloridprobe.....	138
Abbildung 7.10:	Dendrogramm für die Yaba-Tabletten.....	139
Abbildung 7.11:	Chromatogramme für vier Yaba-Proben.....	140
Abbildung 8.1:	Achirale Trennung der Wirkstoffe in Heroin.....	145
Abbildung 8.2:	Achirale Trennung der Wirkstoffe und Zusätze in Kokain.....	145
Abbildung 8.3:	Scores- und Loadings-Plot der PCA für 8 Messungen einer identischen Probe am selben Tag.....	147
Abbildung 8.4:	PCA mit Papaverin.....	148
Abbildung 8.5:	PCA ohne Papaverin.....	148
Abbildung 8.6:	Scores- und Loadings-Plot für Heroinproben der Chargen 1-3.....	149
Abbildung 8.7:	Scores- und Loadings-Plot für Kokainproben der Chargen 1-3: Materialvergleich auf Hauptwirkstoffebene (Nebenkomponenten).....	151
Abbildung 8.8:	Scores- und Loadings-Plot für Kokainproben der Chargen 1-3: Materialvergleich auf Hauptkomponentenebene (Zusätze + Kokain) ..	152
Abbildung 12.1:	Kalibriergerade (–)-Norephedrin.....	172
Abbildung 12.2:	Kalibriergerade (+)-Norephedrin.....	172
Abbildung 12.3:	Kalibriergerade (–)-Synephrin.....	173
Abbildung 12.4:	Kalibriergerade (+)-Synephrin.....	173
Abbildung 12.5:	Kalibriergerade (–)-Metamfetamin.....	173
Abbildung 12.6:	Kalibriergerade (+)-Metamfetamin.....	174
Abbildung 12.7:	Kalibriergerade (–)-Methadon.....	174
Abbildung 12.8:	Kalibriergerade (+)-Methadon.....	174
Abbildung 12.9:	Kalibriergerade (–)-Ephedrin.....	175
Abbildung 12.10:	Kalibriergerade (+)-Ephedrin.....	175
Abbildung 12.11:	Kalibriergerade (–)-Amfetamin.....	175
Abbildung 12.12:	Kalibriergerade (+)-Amfetamin.....	176
Abbildung 12.13:	Kalibriergerade Bezylamin (ISTD).....	176
Abbildung 12.14:	Kalibriergerade (–)-Tetramisol.....	176
Abbildung 12.15:	Kalibriergerade (+)-Tetramisol.....	177
Abbildung 12.16:	Kalibriergerade (–)-N-Methylephedrin.....	177
Abbildung 12.17:	Kalibriergerade (+)-N-Methylephedrin.....	177

Tabellenverzeichnis

Tabelle 4.1 :	Verwendete Targetkomponenten	39
Tabelle 4.2 :	Relative Standardabweichung der normierten Peakflächen für die Targetkomponenten.....	41
Tabelle 4.3:	untersuchte MDMA-Proben	43
Tabelle 4.4:	Korrelationskoeffizienten bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel	49
Tabelle 4.5:	Pearson-Korrelationskoeffizienten für den gesamten Datensatz	58
Tabelle 4.6 :	Pearson-Korrelationskoeffizienten für alle 16 Proben	74
Tabelle 4.7:	Fällungsbedingungen für die Proben	77
Tabelle 4.8:	Pearson-Korrelationskoeffizient je Probe	82
Tabelle 5.1:	Trennbedingungen für die Optimierung der Massenspektrometereinstellungen	88
Tabelle 5.2:	Variation der Hilfsflusszusammensetzung.....	89
Tabelle 5.3:	Optimierte Trennbedingungen und Massenspektrometereinstellungen	104
Tabelle 5.4:	3-Sigma-Nachweisgrenzen für die Analyte bei chiraler Trennung.....	106
Tabelle 5.5:	3-Sigma-Nachweisgrenzen der Analyte für die nichtchirale Trennung	107
Tabelle 5.6:	Chirale Auflösung der Analyte	108
Tabelle 5.7:	RSD für die Migrationszeit der Analyte	109
Tabelle 5.8:	RSD für die Peakfläche der Analyte	110
Tabelle 5.9:	Bestimmtheitsmaße der Auftragung der Peakflächen gegen die Konzentration der Analyte	112
Tabelle 7.1:	Nachweisgrenzen für die beta-Phenylethylamine	131
Tabelle 7.2:	Enantiomerenauflösung für die fünf beta-Phenylethylamine.....	131
Tabelle 8.1:	Relative Standardabweichungen der Peakflächen unnormiert und normiert auf die Summe aller Flächen	146
Tabelle 12.1 :	Targetkomponenten für Metamfetaminprofiling	168

1 Einleitung

Der Materialvergleich illegaler Rauschgifte ist Bestandteil der forensischen Analytik. Unter Forensik fallen alle wissenschaftlichen Arbeitsgebiete, die im Dienste juristischer Zwecke stehen. Diese Definition umfasst Strafverfolgung im weitesten Sinne, was sowohl Verbraucher- und Umweltschutz sowie Gesundheits- und Arbeitsschutz, als auch Zivilrecht wie zum Beispiel Vertragsbruch und Fahrlässigkeit beinhaltet [1]. Im allgemeinen Sprachgebrauch wird der Begriff Forensik jedoch enger an die Nutzung wissenschaftlicher Techniken zur Erhebung von Beweismitteln durch Polizeibehörden für die Verwendung vor Gericht bei der Untersuchung von Verbrechen geknüpft [1]. Dabei handelt es sich um forensische Kriminaltechnik, die aus verschiedenen Bereichen wie unter anderem der Untersuchung von Kontaktspuren (Fasern, Farbe, Haare, Fingerabdrücke, Fußabdrücke, Blutspuren und DNA-Analyse), Dokumenten (Tinte, Papier, Handschriften, Druck), Brand- und Explosionsspuren, Schmauchspuren und Geschossen, Alkohol im Blut, Gift oder illegalen Rauschgiften besteht. Die Obduktion von Leichen fällt hingegen in das Gebiet der Rechtsmedizin.

Das Problem des Drogenmissbrauchs wächst nach wie vor und stellt die forensischen Analytiker vor immer neue Herausforderungen. Ihre Aufgaben umfassen sowohl die Identifizierung als auch die Quantifizierung von Rauschgiften unterschiedlicher Substanzklassen, wie Cannabis, Heroin, Kokain, Mescaline, LSD (Lysergsäurediethylamin), Barbiturate, halluzinogene Pilze sowie synthetische Drogen aus der Gruppe der Amphetamine. Auch die Identifizierung neuer bisher nicht bekannter Designerdrogen spielt eine Rolle. Die Quantifizierung ist wichtig, da das Strafmaß von der vom Täter in Umlauf gebrachten Menge abhängig ist.

Ein weiteres Aufgabengebiet ist der Materialvergleich von Rauschgiften. Hierbei werden zwei oder mehr Proben einer illegalen Drogenart miteinander verglichen, um bestimmen zu können, ob diese Proben aus derselben Produktionscharge stammen. Dies dient der Ermittlungshilfe, es können hierdurch zum Beispiel Distributionswege illegaler Rauschgifte nachvollzogen werden. Solch ein Vergleich beinhaltet sowohl die Untersuchung des Hauptwirkstoffs, als auch der beigefügten Zusatzstoffe und Streckmittel [2]. Neben dem chemischen Profil spielen für die vergleichende Analyse von Rauschgiften in Tablettenform, wie zum Beispiel Ecstasy oder Yaba (Metamfetaminzubereitungen), auch physikalische

Eigenschaften (externe Parameter) wie Tablettenfarbe, Tablettenlogo, Tablettendurchmesser, Tablettendicke sowie das Gewicht der Tablette eine Rolle [3, 4].

Eine der klassischen Analysemethoden für den Materialvergleich illegaler Rauschgifte ist die Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie als Detektionsmethode.

Auch die Kapillarelektrophorese nimmt als Analysemethode in der Kriminaltechnik eine immer wichtigere Rolle ein, da sie den „klassischen“ chromatographischen Analysemethoden hinsichtlich Trennleistung, Erfassung von Analyten in komplexen Matrices, Probenaufbereitung, Analysendauer und Materialverbrauch überlegen ist. Sie kommt in diesem Anwendungsgebiet unter anderem bei der DNA-Analyse, in der Drogenanalytik und zur Untersuchung von Schmauchspuren, Sprengstoffrückständen und Farbstoffkomponenten in Tinte zum Einsatz [5, 6, 7].

2 Aufgabenstellung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit Materialvergleichsuntersuchungen ausgewählter Rauschgifte mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie und Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie.

Ein Schwerpunkt ist die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Synthesebedingungen bei der Herstellung von 3,4-Methylenedioxyamfetamin-Hydrochlorid (MDMA-HCl), des Hauptwirkstoffs in Ecstasy-Tabletten, auf den forensischen Materialvergleich mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie.

Es ist bereits bekannt, dass Änderungen der Reaktionsbedingungen bei der Herstellung von MDMA-Hydrochlorid mittels reduktiver Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff, der am häufigsten verwendeten Syntheseroute für die illegale Produktion von MDMA-Hydrochlorid, zu unterschiedlichen Isotopenverhältnissen von Wasserstoff ($^2\text{H}/^1\text{H}$), Kohlenstoff ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) und Stickstoff ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) im Endprodukt führen [8]. Auch ist bekannt, dass das gesamte organische Spurenverunreinigungsprofil von den Synthesebedingungen beeinflusst wird [9].

Ziel dieser Arbeit ist nun die systematische Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Reaktionszeit, chemischer Ursprung der Vorläufersubstanz (Edukt-Charge) bei der reduktiven Aminierung sowie der Einfluss unterschiedlicher Bedingungen während des Kristallisationsschrittes der MDMA-Base zum MDMA-Salz, nicht nur auf das gesamte organische Spurenverunreinigungsprofil, sondern auch auf die einzelnen organischen Verunreinigungen (Targets) im Endprodukt.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit ist die Entwicklung und Beurteilung der Eignung alternativer Analysemethoden wie Kapillarelektrophorese und Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie für den Einsatz in der forensischen Drogenanalytik.

Ziel hierbei ist die Entwicklung, Optimierung und Validierung eines flexiblen und empfindlichen Verfahrens zur sicheren chiralen Identifizierung des Hauptwirkstoffs sowie weiterer zugesetzter Wirkstoffe in Betäubungsmitteln verschiedener Substanzklassen (beta-Phenylethylamine, Methadon, Tetramisol) durch Kopplung von Kapillarelektrophorese mit Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) sowie die Adaptierung des Analyseverfahrens im Hinblick auf die Identifizierung chiraler Verunreinigungen in illegalen Metamfetaminzubereitungen (Yaba-Tabletten) zum Zweck des Materialvergleichs. Auch die Prüfung eines bereits existierenden CE-Verfahrens [10] zur Enantiomerentrennung von beta-Phenylethylaminen auf die Eignung für den Materialvergleich von

Metamfetaminzubereitungen ist Bestandteil der Arbeit. Weiterhin soll ein neuer Ansatz für den achiralen Materialvergleich von Heroin und Kokain durch die chemometrische Auswertung der aus Kapillarelektrophorese-ESI-MS-Messungen (CE-ESI-MS) gewonnenen Daten untersucht werden.

3 Grundlagen

3.1 Betäubungsmittel und Zusatzstoffe verschiedener Substanzklassen

Bei Rauschgiften handelt es sich um Substanzen, die das Nervensystem und die Psyche beziehungsweise das Bewusstsein beeinflussen, das heißt um psychoaktive oder psychotrop wirksame Substanzen. Sie besitzen ein hohes Sucht- und Missbrauchspotential. Der Begriff Droge wird meist synonym verwendet. Zu ihnen zählen unter anderem Ethanol, Nikotin, Marihuana, Heroin und Kokain. Bei einem Betäubungsmittel handelt es sich ebenfalls um eine psychotrop wirksame Substanz mit gewissem Abhängigkeitspotential. Der Begriff Rauschgift wird häufig synonym verwendet, allerdings sind Betäubungsmittel im engeren Sinne nur alle Stoffe, die in den Anlagen I, II oder III des Betäubungsmittelgesetzes aufgeführt sind und für deren straffreien Umgang eine Erlaubnis benötigt wird (§ 3 BtMG). Als „illegale Drogen“ werden Betäubungsmittel wie zum Beispiel Heroin oder Ecstasy bezeichnet. Es gibt aber auch medizinisch-therapeutisch verwendete Betäubungsmittel wie zum Beispiel Morphin oder Methadon. Auch bestimmte Stoffe, die bei der Herstellung psychoaktiver Substanzen entstehen, werden als Betäubungsmittel bezeichnet.

Bei Zusatzstoffen handelt es sich um Stoffe, die dem jeweiligen Betäubungsmittel, zusätzlich zu dem Hauptwirkstoff, zugesetzt sind und ebenfalls eine pharmakologische Wirkung zeigen. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei zugesetzten Stoffen ohne pharmakologische oder psychotrope Wirkung um Verschnittstoffe beziehungsweise Streckmittel. Zu diesen zählt zum Beispiel Laktose.

Bei einer illegalen Rauschgiftzubereitung handelt es sich um die zu konsumierende Zubereitung, die den entsprechenden Hauptwirkstoff sowie Zusätze und Streckmittel oder auch Tablettierhilfsstoffe, Farbstoffe und Aromen enthält.

Im Folgenden wird auf die für diese Arbeit relevanten Betäubungsmittel und Zusatzstoffe näher eingegangen.

3.1.1 *Beta-Phenylethylamine*

Zu der Gruppe der psychotrop wirksamen beta-Phenylethylamine zählen unter anderem Amfetamin, Metamfetamin (MA), Norephedrin, Methylephedrin, Ephedrin, 3,4-Methylenedioxyamfetamin (MDMA) und Synephrin. Die Strukturformeln sind in der Abbildung 3.1 dargestellt. Beta-Phenylethylamine kommen oral zur Anwendung und

bewirken ein Wachsein und eine Bewusstseinsweiterung bei Zunahme der Kommunikativität. Sie sind hirnschädigend und können permanente physische und psychische Schäden sowie psychische Abhängigkeit hervorrufen. Sie stimulieren das zentrale Nervensystem und sind chemisch und pharmakologisch verwandt mit den Catecholaminen wie zum Beispiel Adrenalin [11].

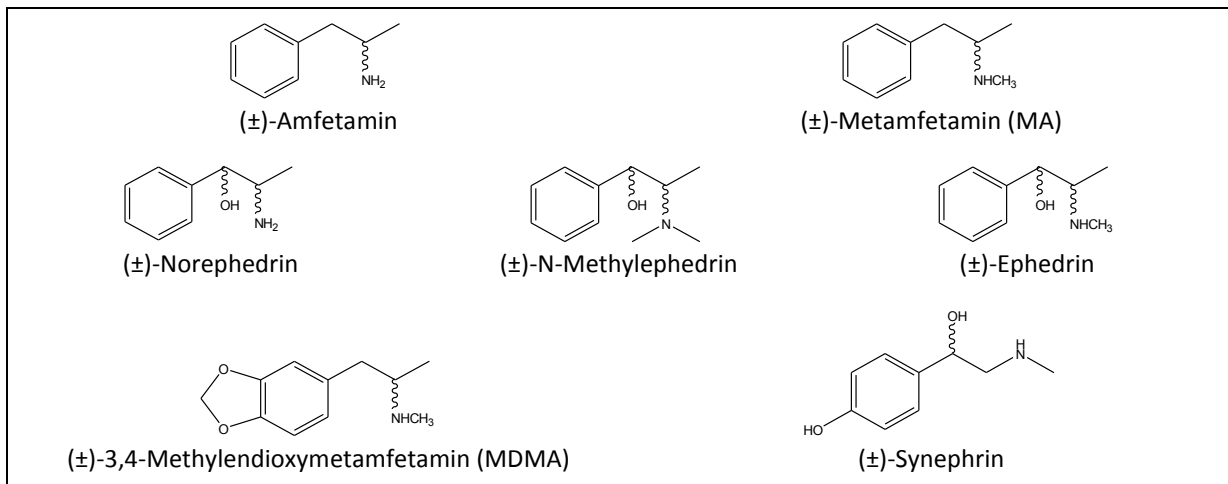


Abbildung 3.1: Strukturformeln der beta-Phenylethylamine

Bei Ecstasy handelt es sich um Drogen- oder Szeneprodukte in Form von Tabletten oder Kapseln, die vorwiegend psychotrope Wirkstoffe aus der Gruppe der beta-Phenylethylaminderivate einzeln oder kombiniert enthalten. Die beta-Phenylethylamine liegen meist der besseren Haltbarkeit und Handhabung wegen in Form eines ihrer Salze vor. Meist handelt es sich um Hydrochloride oder Sulfate, seltener um Phosphate. Typisch für Ecstasy-Tabletten ist das Vorhandensein von MDMA. Seltener enthalten sie 3,4-Methylenedioxyamfetamin (MDA), 3,4-Methylenedioxyethylamfetamin (MDEA), Ephedrin, Pseudoephedrin, Amfetamin oder Metamfetamin.

Amfetamin ist der Prototyp aller Psychostimulantien und wurde erstmals 1887 dargestellt, seine pharmakologischen Eigenschaften, wie die Nasenschleimhaut abschwellende Wirkung aber auch die stimulierenden und appetitzügelnden Effekte, wurden jedoch erst in den 1920er Jahren eingehend erkannt und therapeutisch genutzt. Die relativ einfache Struktur des Amfetamins lässt sich in vielfältiger Weise variieren, so dass eine Fülle von Verbindungen mit ähnlicher Wirkung resultiert. Dieses Prinzip der Molekülveränderung führt zu so genannten „Designer Drugs“, die heutzutage durch die Einbeziehung der Computertechnik immer einfacher herstellbar werden, da in kurzer Zeit immer neuere Moleküle entworfen werden können [12].

Im zweiten Weltkrieg wurden Amfetamin und Metamfetamin eingesetzt, um das körperliche Leistungsvermögen unter extremer Beanspruchung zu steigern. Erst um 1970 wurde die Suchtgefahr von beta-Phenylethylaminen erkannt, so dass sie aus dem Verkehr gezogen und dem Betäubungsmittelgesetz unterstellt wurden [12].

Die S-(+)-Enantiomere von Amfetamin und Metamfetamin haben eine bis zu fünfmal höhere psychisch stimulierende Wirkung als die R-(-)-Enantiomere und sind in unterschiedlichen Anlagen des deutschen Betäubungsmittelgesetzes aufgeführt.

Bei Amfetamin und Metamfetamin handelt es sich um Stimulantien, da sie das zentrale Nervensystem anregen. Die 3,4-Methylenedioxyamfetamine, wie zum Beispiel MDMA, zählen ebenfalls zu den Stimulantien. Sie sind jedoch durch die 3,4-Methylenedioxygruppe am aromatischen Ring in ihrer chemischen Struktur dem halluzinogenen Mescaline ähnlich und werden daher aufgrund ihrer gefühlsverändernden Wirkung auch als Entactogene bezeichnet [13]. Die pharmakologische Wirkung der Methylenedioxyamfetamine ist folglich eine Mischung aus der Wirkung der Amfetamine und des Mescalins und stark dosisabhängig. Während bei niedriger Dosis die anregende Wirkungskomponente im Vordergrund steht, tritt sie bei hohen Dosen hinter der halluzinogenen Wirkung zurück [10].

3.1.1.1 *Metamfetamin*

Metamfetamin ist eine synthetische Droge und gehört zur Gruppe der zentralnervös stimulierenden beta-Phenylethylamine. Es taucht auf dem illegalen Rauschgiftmarkt meist in kristalliner Form und als Pulver („Crystal“, „Ice“) auf und wird konsumiert, indem es geschnupft oder gelöst injiziert wird. Eine Ausnahme bildet die so genannte „Thai Pill“ oder „Yaba“. Hierbei handelt es sich um intensiv gefärbte – häufig mit Vanillearoma versetzte – Tabletten, die neben (+)-Metamfetamin auch Coffein enthalten und geraucht werden. Metamfetamin wurde bereits 1934 entwickelt und als Arzneimittel auf den Markt gebracht. In den zurückliegenden Jahren war der Missbrauch vor allem auf den südostasiatischen Raum sowie Japan, Australien und die USA konzentriert. Ausnahme in Europa ist Tschechien mit eigener Produktion und Versorgung [12].

Die am häufigsten verwendete Syntheseroute zur illegalen Herstellung von (+)-Metamfetamin ist die Reduktion von (+)-Pseudoephedrin oder (-)-Ephedrin [14, 15, 16, 17]. Diese verwendeten Edukte werden oft aus der Pflanze *Ephedra sinica* oder aus pseudoephedrinhaltigen pharmazeutischen Produkten gewonnen. *Ephedra sinica* kann nicht nur (-)-Ephedrin und (+)-Pseudoephedrin, sondern auch (-)-Norephedrin und Spuren anderer Ephedraalkaloide enthalten [18]. Im Gegensatz dazu führt die Verwendung des achiralen

Phenyl-2-propanon als Edukt zur Bildung racemischen Metamfetamins. Die Abbildung 3.2 zeigt die typischen Synthesewege für Metamfetamin auf. Dabei handelt es sich in beiden Fällen um eine Reduktion von (–)-Ephedrin oder (+)-Pseudoephedrin zu (+)-Metamfetamin. Bei der so genannten Nagai-Methode wird als Reduktionsmittel Iod und roter Phosphor verwendet, wohingegen bei der Birch-Reduktion Natrium in flüssigem Ammoniak zum Einsatz kommt.

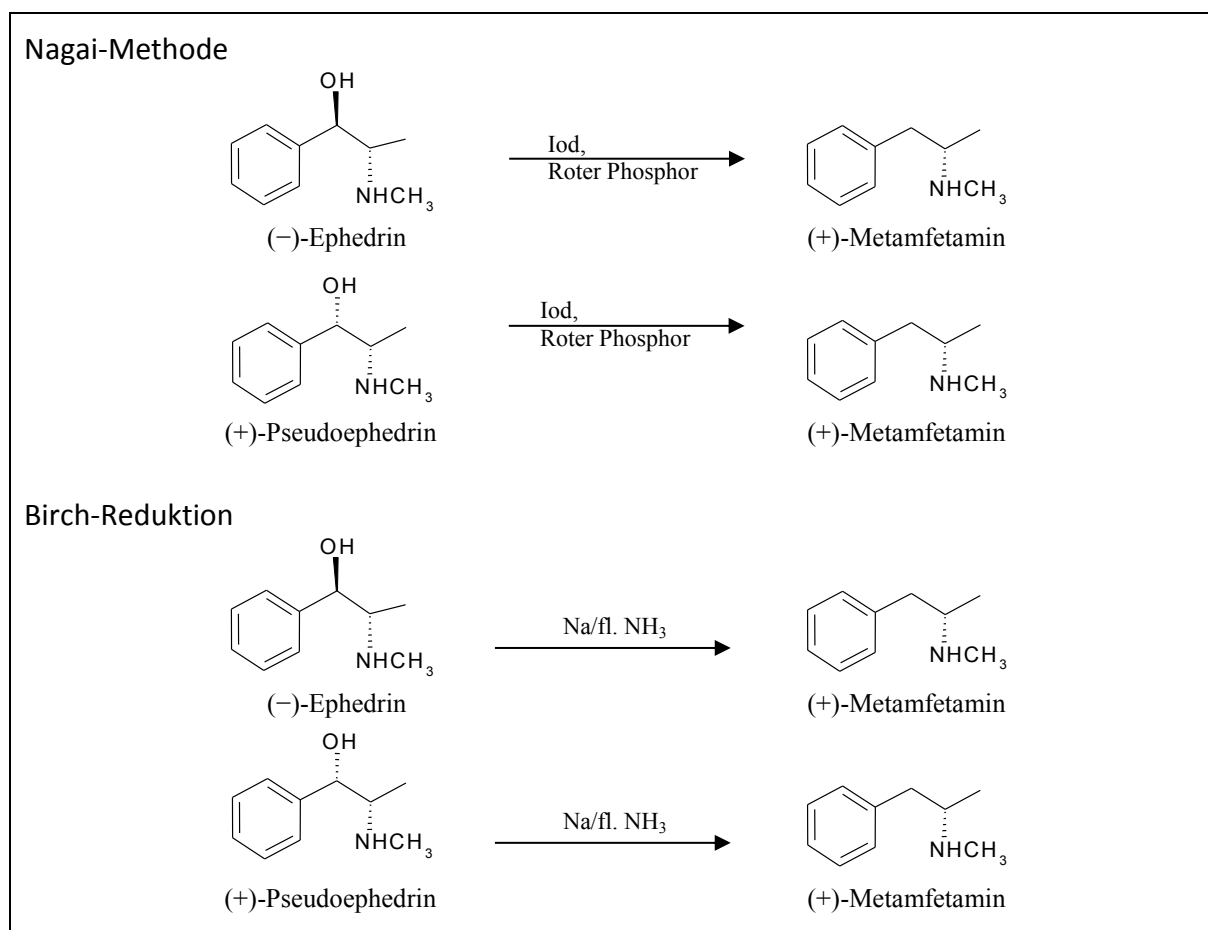


Abbildung 3.2: Die beiden häufigsten Syntheserouten zur Produktion von illegalem Metamfetamin

3.1.1.2 3,4-Methylenedioxyamfetamin

Das derzeit auf dem illegalen Drogenmarkt sicher bedeutendste Amfetaminderivat MDMA ließ sich die Firma Merck 1912 als potentiellen Appetitzügler patentieren. Allerdings erfüllte die Verbindung nicht die angestrebte Wirkqualität, so dass sie für viele Jahre in Vergessenheit geriet. In den 1950er Jahren wurde MDMA im Rahmen von Versuchen zur chemischen Kriegsführung in den USA getestet. Das Programm wurde 1959 durch Kongressbeschluss gestoppt [12].

3,4-MDMA ist eine synthetische Droge, die das Zentralnervensystem stimuliert und zur Gruppe der beta-Phenylethylamine gehört. Diese so genannten Amphetamin-Typ-Stimulanzen sind die Hauptwirkstoffe in Ecstasy-Tabletten oder anderen Präparaten. Üblicherweise liegt MDMA in Ecstasy-Tabletten in Salzform vor, meistens als Hydrochlorid. Ecstasy zählt nach wie vor zu den beliebtesten illegalen Drogen und wird vor allem in Teilen Europas, Nordamerikas, Ozeaniens, Ost- und Südostasiens hergestellt [19].

Bei der illegalen Synthese von MDMA wird meist zunächst die MDMA-Base aus 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanon (Piperonylmethylketon, PMK, MDP-2-P) durch Reduktion gewonnen. Diese wird in einem weiteren Schritt zum MDMA-Salz (meist Hydrochlorid) umgesetzt.

Die gängigste Syntheseroute zur Produktion von illegalem MDMA ist die reduktive Aminierung von PMK. Hierbei können unterschiedliche Reduktionsmittel verwendet werden, z. B. Natriumborhydrid (kalte Methode), Natriumcyanoborhydrid, Aluminiumamalgam oder Platin-IV-Oxid/H₂. Die Autoklavreaktion mit Platin-IV-Oxid/H₂ als Reduktionsmittel und die kalte Methode sind die beliebtesten Herstellungsverfahren zur illegalen Synthese von MDMA [20]. Laut Bundeskriminalamt liegt der Anteil der Autoklavreaktionen bei 70 %. Weitere Syntheserouten zur Herstellung von MDMA sind die Brompropanroute und die Leuckart-Synthese. Bei der Brompropanroute wird MDMA ausgehend von Safrol synthetisiert, bei der Leuckartsynthese wiederum ausgehend von PMK. Abbildung 3.3 zeigt die gängigen Syntheserouten zur Herstellung von MDMA.

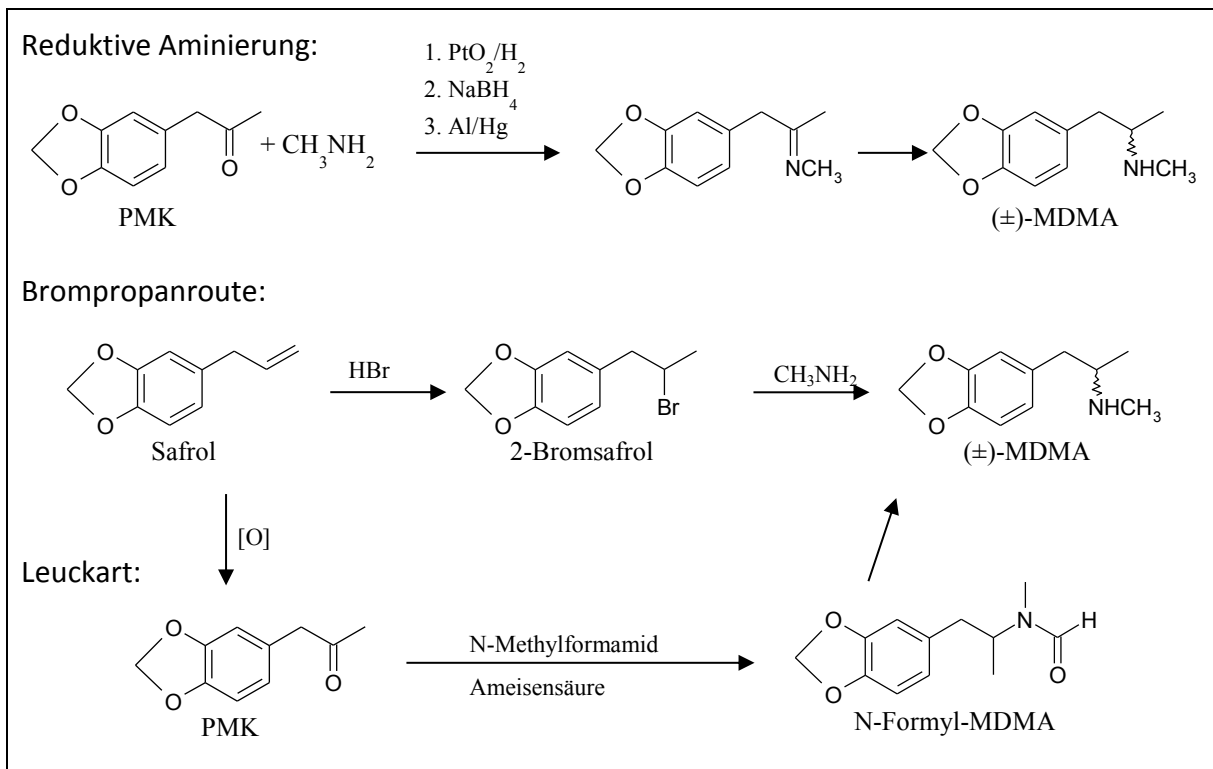


Abbildung 3.3: Synthesewege zur Herstellung von MDMA

3.1.2 Methadon

Das starke Analgetikum Methadon übertrifft Morphin in seiner Eigenschaft als Schmerzmittel und hat ebenfalls ein Sucht erzeugendes Potential. Sowohl das R-Enantiomer, auch Levomethadon genannt, als auch das Racemat werden in Deutschland bei der Entwöhnung von Heroinabhängigen eingesetzt. Levomethadon besitzt eine höhere Wirksamkeit als das S-Enantiomer. Methadon ist als verkehrsfähiger und verschreibungsfähiger Stoff im Betäubungsmittelgesetz aufgeführt [21].

Die Strukturformel ist in Abbildung 3.4 dargestellt.

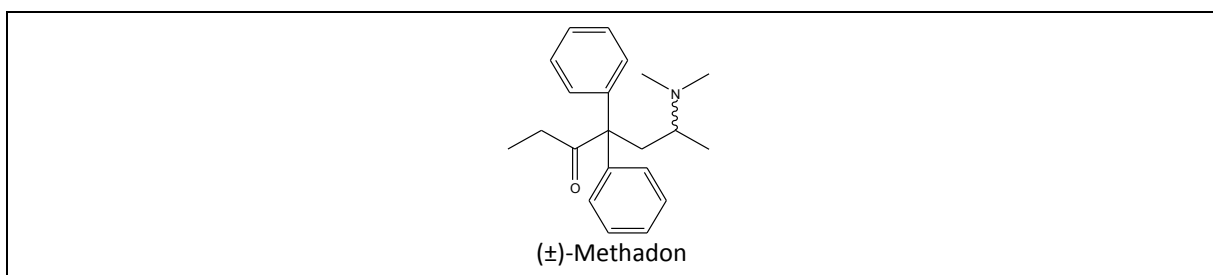


Abbildung 3.4: Strukturformel Methadon

3.1.3 Heroin

Heroin (Diacetylmorphin) ist ein das zentrale Nervensystem dämpfendes Betäubungsmittel. Es wird hergestellt, indem das so genannte Rohopium mit Wasser, gebranntem Kalk (CaO) und Ammoniumchlorid zur Morphin-Base umgesetzt wird. Diese wird mit Essigsäureanhydrid unter Zugabe von Natriumcarbonat (Na_2CO_3) zu Diacetylmorphin (Heroinbase) acetyliert. Selten wird die erhaltene Heroinbase in Aceton gelöst und durch Zugabe von Salzsäure als Heroinhydrochlorid ausgefällt. Dieser Schritt wird jedoch meist nicht durchgeführt, die Heroinbase wird direkt mit Streckmitteln und Verschnittstoffen versetzt. Der Hauptwirkstoff illegaler Heroinzubereitungen ist Diacetylmorphin (Heroin: ca. 60 %). Nebenkomponenten, die bei der Herstellung von Diacetylmorphin entstehen und daher ebenfalls in Heroinzubereitungen enthalten sind, sind unter anderem Morphin, Codein, Papaverin, Narcotin und Acetylmorphin. Verwendete Zusätze sind meist Coffein und Paracetamol in ähnlicher Zusammensetzung. Als Verschnittstoffe kommen Lactose, Mannit, Saccharose und andere zum Einsatz [22]. Die Strukturformeln von Heroin sowie der wichtigsten Nebenkomponenten sind in Abbildung 3.5 aufgeführt.

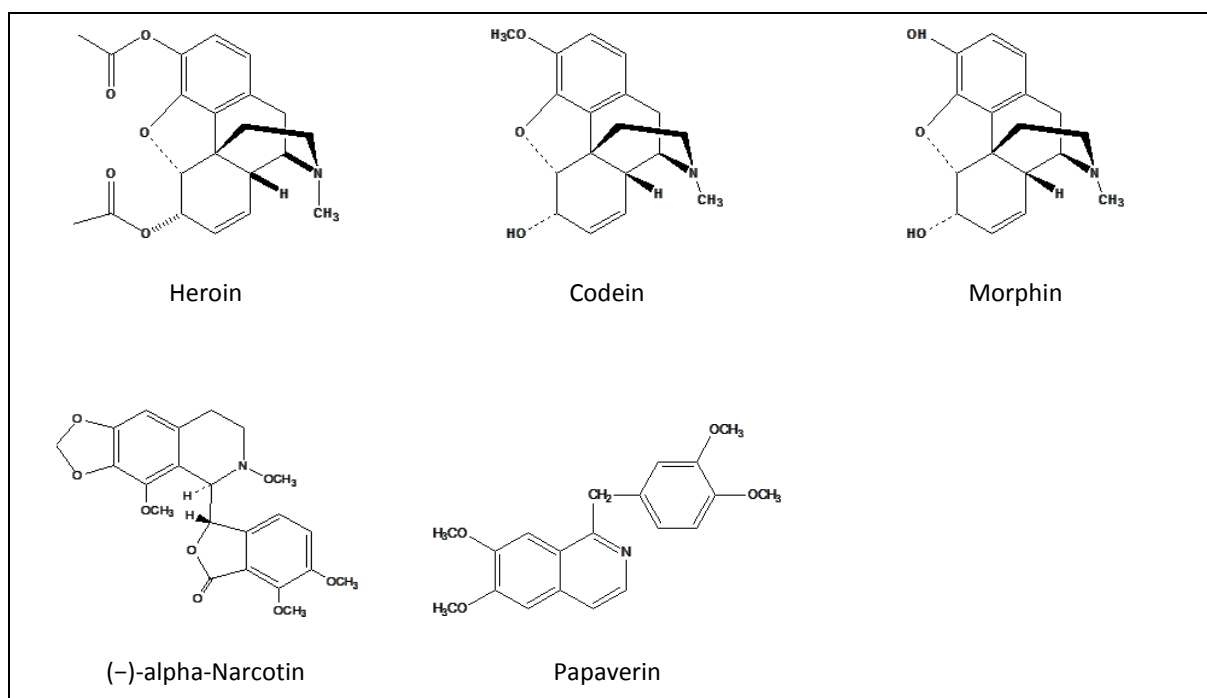


Abbildung 3.5: Strukturformeln von Heroin und dessen Nebenkomponenten

3.1.4 Kokain

Bei Kokain handelt es sich um ein das zentrale Nervensystem stimulierendes Betäubungsmittel. Zur Herstellung von Kokain werden die Kokablätter der Kokapflanze

zerkleinert und mit Wasser, Kalk, Benzin und Schwefelsäure versetzt, um die Alkaloide zu extrahieren. Das Gemisch wird mit Ammoniak basisch gemacht, und man erhält die so genannte Koka-Paste (pasta basica). Diese wird mit Schwefelsäure, Ammoniak und Kaliumpermanganat zur Kokain-Base (pasta basica lavada) umgesetzt. Diese wiederum wird in Aceton gelöst und durch Zugabe von Salzsäure wird Kokainhydrochlorid ausgefällt. Im Gegensatz zum Heroin erfolgt dieser Schritt bei der Kokainherstellung immer. Der Hauptwirkstoff illegaler Kokainzubereitungen ist Kokain (ca. 80 %). Nebenkomponenten, die bei der Herstellung von Kokain entstehen und daher ebenfalls in Kokainzubereitungen enthalten sind, sind unter anderem Ecgonin, Benzoylecgonin, Cinnamoylkokain (cis/trans) und Tropakokain. Verwendete Zusätze sind Lidocain, Procain, Levamisol, Coffein und andere. Als Verschnittstoffe kommen unter anderem Laktose, Mannit, Glucose und Saccharose zum Einsatz [22]. Die Strukturformeln der wichtigsten Nebenkomponenten und Zusätze sind in Abbildung 3.6 dargestellt.

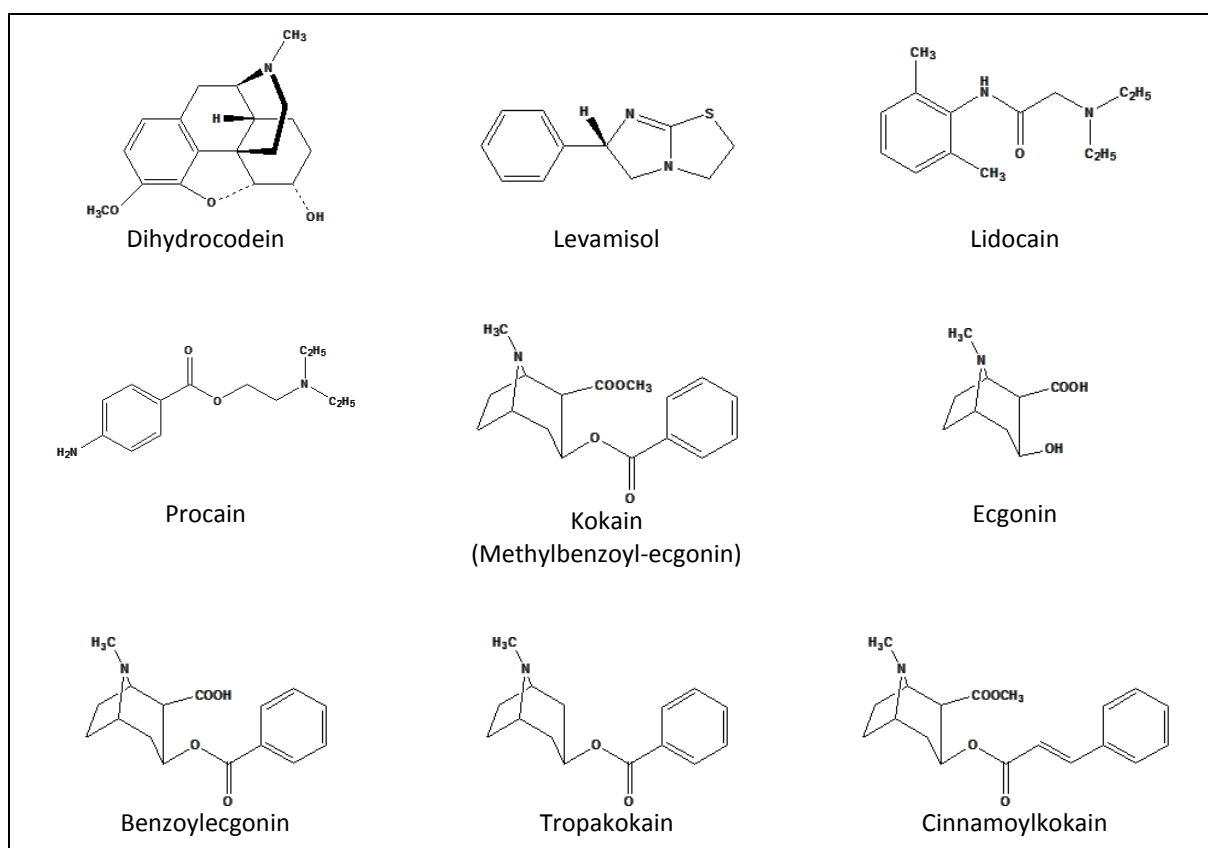


Abbildung 3.6: Übersicht der Strukturformeln von Nebenprodukten und Zusätzen von Kokain

3.1.5 Tetramisol

Tetramisol wird in der Veterinärmedizin als Medikament gegen Würmer (Anthelmintikum) eingesetzt, wohingegen bei Menschen ausschließlich das R-Enantiomer Levamisol sowohl als Anthelmintikum, als auch in der Krebstherapie eingesetzt wird [21]. Bei Levamisol handelt es sich um einen Zusatzstoff, der häufig in illegalen Kokainzubereitungen zu finden ist. Die Strukturformel ist in Abbildung 3.6 dargestellt.

3.2 Rauschgiftmaterialvergleich

Unter Rauschgiftmaterialvergleich versteht man den chemischen sowie physikalischen Vergleich illegaler Rauschgiftzubereitungen zum Zweck polizeilicher Ermittlungen. Bei einer illegalen Rauschgiftzubereitung handelt es sich um eine konsumfertige Einheit des entsprechenden Rauschgiftes beziehungsweise Betäubungsmittels, das heißt um den Wirkstoff versetzt mit Zusätzen und Streckmitteln sowie, im Fall von Tabletten, gegebenenfalls Tablettierhilfsstoffen. Die chemische sowie physikalische Untersuchung zum Zweck des Rauschgiftmaterialvergleichs wird als Materialvergleichsuntersuchung oder als Profilanalyse beziehungsweise Profiling bezeichnet. Die chemische Untersuchung der Proben zum Zweck des Materialvergleichs wird auch als chemisches Profiling bezeichnet, meist ist allerdings damit der chemische Vergleich des Hauptwirkstoffes gemeint. Die Analyse organischer Verunreinigungen, die meist Nebenprodukte der Synthese des Hauptwirkstoffs darstellen, nennt man chemisches Impurityprofiling [23].

Der Rauschgiftmaterialvergleich liefert forensisch relevante Hinweise in Bezug auf Probenzusammenhänge und Distributionswege, das heißt es kann nachvollzogen werden, welche Proben in welchen illegalen Laboren hergestellt wurden und somit auch festgestellt werden, ob ein Zusammenhang zwischen Proben aus verschiedenen Sicherstellungen besteht. Für die meisten Betäubungsmittel existieren eine Menge – oft veröffentlichter – unterschiedlicher Syntheseanleitungen. Daher ist das chemische Profil des Endprodukts stark beeinflusst durch die Synthesebedingungen wie zum Beispiel die Syntheseroute oder die Art und Qualität der eingesetzten Chemikalien. Aus diesem Grund haben Betäubungsmittel aus derselben Produktionscharge meist ein für diese Charge charakteristisches chemisch-analytisches Profil, bestehend aus für die jeweilige Synthese typischen NebenkompONENTEN, Zwischenprodukten und Verunreinigungen. Mit Hilfe dieser charakteristischen Profile lassen sich Proben aus verschiedenen Produktionschargen unterscheiden und Verbindungen herstellen zwischen Proben aus ein und derselben Charge und somit desselben illegalen

Labors. Auf diese Weise könnten Proben mit identischem Profil Verbindungen zwischen einzelnen forensisch relevanten Fällen und Gegebenheiten aufzeigen. Die gewonnenen Informationen können zur Aufdeckung von Distributionswegen, zur Herstellung von Beziehungen zwischen illegalen Laboren und zur Identifizierung der zur Herstellung illegaler Betäubungsmittel verwendeten Syntheserouten, Reaktionsbedingungen und Vorläufersubstanzen beitragen [24, 25].

Die quantitative Profilanalyse von NebenkompONENTEN und Verunreinigungen macht einen direkten Materialvergleich von Proben möglich. Dieser so genannte Batch-to-Batch-Vergleich lässt Rückschlüsse auf Probenzusammenhänge (Spezifika) zu. Auf der anderen Seite ermöglicht die quantitative Profilanalyse mit harmonisierten und somit standardisierten Verfahren und das datenbankgestützte Auswerten eine Überwachung des Rauschgiftmarktes sowie ein Monitoring von Distributionswegen über einen langen Zeitraum hinweg (Profilingprogramm).

Hierfür wird meist standardmäßig Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie als Analyseverfahren eingesetzt. Bei den verwendeten Analyseverfahren handelt es sich um harmonisierte Methoden, das heißt, alle Arbeitsschritte, von der Probenaufbereitung bis zur Datenauswertung, wurden genau festgelegt, damit für ein und dieselbe Probe immer ein im Rahmen der zugelassenen Standardabweichung gleiches Ergebnis herauskommt, unabhängig davon, wo und von wem die Probe untersucht wurde. Diese Qualitätssicherungsaspekte spielen bei internationalen Vergleichen oder bei länderübergreifenden forensischen Ermittlungen eine entscheidende Rolle, da die erhobenen Daten zum Zweck eines länderübergreifenden Abgleichs in eine internationale Datenbank eingestellt werden und somit vergleichbar sein müssen. Daraus lassen sich weltweit Probenzusammenhänge ableiten. Es existieren zahlreiche internationale Profilingprogramme für unterschiedliche Rauschgifte wie zum Beispiel Heroin, Kokain, Metamfetamin und MDMA. Unterschiedliche Synthesebedingungen während der illegalen Herstellung können – wie bereits erläutert – zu Unterschieden im chemischen Profil des Endproduktes führen, da sie unterschiedlichen Einfluss auf die verschiedenen organischen Verunreinigungen, so genannte Targets beziehungsweise Targetkomponenten, haben. Auf der Quantifizierung solcher festgelegter Targets beruhen die meisten Profilingprogramme.

Synthetische Drogen wie zum Beispiel Ecstasy – aber auch halbsynthetische Drogen wie Heroin oder Kokain – enthalten häufig neben der aktiven Substanz weitere psychotrop wirksame Substanzen wie zum Beispiel Coffein oder Paracetamol, so genannte Zusatzstoffe. Auch enthalten sie nichtwirksame Substanzen wie zum Beispiel Laktose oder Saccharose als

Streckmittel oder Tablettierhilfsstoffe. Auch auf der Ebene dieser Zusatzstoffe oder Streckmittel lässt sich, durch chemische Analyse derselben, ein Materialvergleich durchführen.

Viele Rauschgiftzubereitungen liegen als optische Isomere mit unterschiedlicher psychotroper Wirksamkeit vor. Daher sind diese in unterschiedlichen Anlagen des deutschen Betäubungsmittelgesetzes aufgeführt. Auch für den Materialvergleich kann eine enantioselektive Bestimmung wichtige Hinweise liefern. Insbesondere bei illegalen Metamfetaminzubereitungen (zum Beispiel „Yaba“), die in Deutschland zunehmend an Bedeutung gewinnen, kann die enantioselektive Bestimmung der aktiven Substanz (MA) Hinweise auf die verwendete Syntheseroute sowie die eingesetzten Vorläufersubstanzen geben [26]. Aber nicht nur die enantioselektive Identifizierung der aktiven Substanz (MA) sondern auch die enantioselektive Bestimmung der chiralen Verunreinigungen kann zur Identifizierung von Distributionswegen und zum Nachweis von Rauschgiftmaterialzusammenhängen herangezogen werden [27]. Aus diesen Gründen ist eine Enantiomerenanalytik verschiedener Rauschgifte, Zusätze und Verunreinigungen ebenfalls interessant. Ein Beispiel hierfür ist die Betrachtung des Enantiomerenverhältnisses von Metamfetamin. Liegt dieses in der illegalen Probe enantiomerenrein vor, sollte die direkte stereospezifische Reduktion eines alpha-Hydroxyphenylethylamin-Enantiomers (Ephedrin oder Pseudoephedrin) stattgefunden haben. Liegt das Metamfetamin jedoch als Racemat vor ((±)-Metamfetamin), so ist davon auszugehen, dass die Synthese über einen achiralen Precursor (Benzylmethylketon) erfolgte [16]. Das Vorliegen von Metamfetamin als Racemat in illegalen Proben kommt jedoch relativ selten vor. Das Enantiomerenverhältnis von Verunreinigungen kann weitere wertvolle Hinweise auf die eingesetzten Ausgangsstoffe liefern. Zum Beispiel deuten Amfetaminenantiomere in illegal produziertem Metamfetamin auf Beimischungen von Norephedrin oder Norpseudoephedrin im zur Synthese verwendeten Ephedrin bzw. Pseudoephedrin hin [28]. Dies wiederum deutet darauf hin, dass das Metamfetamin aus dem ephedrinhaltigen Ephedrakraut (*Ephedra sinica*, chinesisch Ma Huang) gewonnen wurde, da Ma Huang neben Ephedrin und Pseudoephedrin – wie bereits erläutert – auch Norephedrin und Norpseudoephedrin enthalten kann. Weist die illegale Probe enantiomerenreines Metamfetamin auf, das durch Reduktion von aus Medikamenten extrahiertem (+)-Pseudoephedrin hergestellt wurde, so sollte die illegale Probe keine Verunreinigungen enthalten, da in den Tabletten reines (+)-Pseudoephedrin vorliegt [10].

Neben dem chemischen Profil spielen für die vergleichende Analyse von Rauschgiften in Tablettenform wie zum Beispiel Ecstasy oder Yaba (Metamfetaminzubereitungen) auch physikalische Eigenschaften (externe Parameter) wie Tablettenfarbe, Tablettenlogo, Tablettendurchmesser, Tablettendicke sowie das Gewicht der Tablette eine Rolle [3, 4].

Aus der physikalischen Charakterisierung der Proben ergeben sich Informationen über den abgelaufenen Tablettierprozess. Diese Informationen erlauben es, Zusammenhänge zwischen Tablettierlaboren herzustellen. Auch die Untersuchung der Zusatzstoffe, Streckmittel und Tablettierhilfsstoffe kann dazu beitragen.

Aus der chemischen Charakterisierung des Hauptwirkstoffs hingegen ergeben sich Informationen über die verwendete Syntheseroute und eingesetzte Edukte bei der illegalen Herstellung. Hierbei ist ein Materialvergleich auf Wirkstoffebene möglich. Dieser wird in der vorliegenden Arbeit durchgeführt, der Aspekt der physikalischen Charakterisierung der Proben wird hier nicht diskutiert.

3.3 Analysemethoden

3.3.1 Gaschromatographie

In der Gaschromatographie (GC) werden die Komponenten durch eine wiederholte Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen gasförmigen Phase getrennt. Zur Trennung von Substanzen mittels GC müssen die einzelnen Komponenten in die Gasphase überführt werden. Daher ist diese Trennmethode auf Substanzen beschränkt, die über eine ausreichende Flüchtigkeit verfügen und sich ohne Zersetzung verdampfen lassen. Im Allgemeinen sind dies Verbindungen mit einem Siedepunkt unter 400 °C bzw. einer molaren Masse unter 500 g/mol. Üblicherweise werden Gaschromatographen durch Druckgasflaschen oder Gasgeneratoren mit Gas versorgt. Die Reproduzierbarkeit der Gasflüsse wird durch Druck- oder Flussregler sichergestellt. Das verwendete Trägergas muss gegenüber den Substanzen chemisch inert sein und darf die Detektion nicht beeinflussen. Sicherheit, Verfügbarkeit in hoher Reinheit sowie der Preis sind weitere wichtige Aspekte. Helium, Argon, Stickstoff, Kohlendioxid und Wasserstoff haben sich als Trägergase etabliert. Das zu verwendende Trägergas richtet sich nach dem eingesetzten Detektor [29, 30].

Die Überführung der Probe auf die GC-Säule erfolgt im Injektor. Die flüssige oder gasförmige Probe wird meist mit einer Mikrospritze durch eine Membran oder ein Septum entweder direkt in die Säule oder in einen Einspritzblock injiziert, der sich am Säuleneingang befindet und als Verdampfungskammer dient. Die Temperatur in diesem Einspritzblock liegt

im Allgemeinen etwa 50 °C über dem Siedepunkt der am wenigsten flüchtigen Substanz. Für normale analytische Säulen variieren die Probenvolumina zwischen einigen Zehntel μl bis zu 20 μl . Im Falle von Kapillarsäulen benötigt man sehr viel geringere Probenmengen (circa 1 nl). Hier wird ein Probeaufgabesystem mit Stromteilung (Splitting) benutzt, um nur einen geringen Bruchteil der Probe auf die Säule zu bringen [30]. In dieser Arbeit kam die splitlose Injektion zum Einsatz.

Bei den verwendeten Trennsäulen unterscheidet man grundsätzlich zwischen gepackten Säulen und Kapillarsäulen. Gepackte Säulen besitzen ein inertes Trägermaterial wie Silicagel oder aufgeschäumte Keramik mit großer Oberfläche und enger Korngrößenverteilung. Das feste Trägermaterial dient dazu, die flüssige stationäre Phase zu immobilisieren und eine größtmögliche Oberfläche für den Kontakt mit der mobilen Phase herzustellen. Durch die niedrige Permeabilität des Materials sind die Länge der Säule und damit die Trennleistung limitiert. Kapillarsäulen bestehen überwiegend aus hochreinem Quarzglas, das außen mit einer Polyimidschicht belegt ist. Sie besitzen eine deutlich höhere Trennleistung, eignen sich bestens für analytische Fragestellungen und werden daher in dieser Arbeit verwendet [29].

Als stationäre Phasen für die Kapillarsäulen spielen Silikonderivate eine wichtige Rolle. Durch Modifikation des Grundgerüsts können diese sehr fein auf die gewünschte Polarität abgestuft werden. Bei Verwendung unpolarer Silikonphasen retardieren die Analyte aufgrund von van-der-Waals-Wechselwirkungen, während bei den polareren Derivaten zusätzlich Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken auftreten können. Sehr polare Säulen können durch die Verwendung von Polyglycol als stationäre Phase erzeugt werden. Zur Erhöhung der Stabilität wird die stationäre Phase durch Polymerisation an die Kapillarwand fixiert [29].

Es gibt eine Vielzahl an Detektoren, die in der GC eingesetzt werden. Häufig werden Flammenionisationsdetektoren (FID) oder Massenspektrometer verwendet. In dieser Arbeit wurde mit einem Massenspektrometer (MS) gearbeitet.

Bei Verwendung eines MS erhält man neben quantitativen auch qualitative Informationen über die Analyte. Die Detektion erfolgt über eine Ionisation und Fragmentierung von organischen Verbindungen, die dann entsprechend ihrem Masse/Ladungsverhältnis aufgetrennt und registriert werden.

Das grundlegende Konzept zur Beschreibung der Trennleistung eines GC-Systems ist die theoretische Bodenhöhe H . Eine der Gleichungen, die die Abhängigkeit der theoretischen Bodenhöhe H von der mittleren Lineargeschwindigkeit u des Trägergases beschreibt, ist die van-Deemter-Gleichung (Gleichung 3.1).

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

Gleichung 3.1

Legende: H : Bodenhöhe (Höhe einer theoretischen Trennstufe)
 u : mittlere Trägergasgeschwindigkeit [cm/s]
 A -Term: Einfluss der Streudiffusion
 B -Term: Diffusion der Analyte in Strömungsrichtung
 C -Term: Zusammengesetzter Massentransportwiderstand

Der A -Term beschreibt den Einfluss des „Mehrwegeffekts“ auf die Peakverbreiterung. Dieser Term ist nur von der Art und Packung des Trägermaterials abhängig. Für offene Kapillarsäulen ist der Beitrag gleich null.

Der B -Term beschreibt die Bandenverbreiterung aufgrund von molekularer Diffusion der Analyte in Strömungsrichtung. Mit zunehmender Strömungsgeschwindigkeit wird der B -Term (B/u) kleiner.

Der C -Term beschreibt die Bandenverbreiterung aufgrund des verzögerten Massenübergangs zwischen stationärer und mobiler Phase und wird von der Art der mobilen Phase und der Art und Dicke der stationären Phase beeinflusst. Er ist proportional zur Strömungsgeschwindigkeit und unter anderem vom Säulenradius abhängig.

Bei Verwendung von zweidimensionaler Gaschromatographie wird die Probe nacheinander in zwei Trennsäulen mit unterschiedlichen stationären Phasen aufgetrennt um die Trenneffizienz zu erhöhen. Ein Modulator fraktioniert den Eluent der ersten Säule und schickt die aufgesammelte Fraktion nach festgelegter Sammelzeit t auf die zweite Säule. Diese ist wesentlich kürzer als die erste. Die Trennung auf der zweiten Säule sollte beendet sein bevor die nächste Fraktion von der ersten auf die zweite Säule gebracht wird.

3.3.2 Kapillarelektrophorese

Bei der Kapillarelektrophorese handelt es sich um eine elektromigrative Trenntechnik. Die Apparatur besteht aus einer mit Elektrolytlösung gefüllten Kapillare aus amorphem Siliciumdioxid (meist Quarzglaskapillare genannt) mit einem Innendurchmesser zwischen 25 und 100 μm und einer Länge bis zu einem Meter, einer Hochspannungsquelle mit einem Spannungsbereich zwischen -30 kV und $+30\text{ kV}$, sowie einem Detektor, der sich nahe am Kapillarauslassende befindet. Die Enden der Kapillare sowie die Elektroden der

Hochspannungsquelle tauchen in zwei Elektrolytvorratsgefäße. Zur Probenaufgabe wird das Elektrolytgefäß am Kapillareinlass gegen ein Gefäß mit Probelösung getauscht. Es werden Probenvolumina im Bereich von 2 nL bis 20 nL injiziert. Üblicherweise erfolgt die Probenaufgabe hydrostatisch, durch Elektromigration oder hydrodynamisch. Bei hydrostatischer Probenaufgabe entsteht durch eine Höhendifferenz zwischen Puffergefäß und Probengefäß ein Siphoneffekt, der zur Einsaugung der Probenlösung in die Trennkapillare führt. Bei der Probenaufgabe durch Elektromigration wird das Probengefäß, in das die Trennkapillare eintaucht, mit der Spannungsquelle verbunden. Durch Anlegen einer kurzzeitigen Spannung wandern die Probenbestandteile in die Trennkapillare. Die hydrodynamische Probenaufgabe erfolgt durch Anlegen einer Druckdifferenz zwischen Probengefäß und Kapillarende, wobei entweder am Kapillaranfang der Druck erhöht, oder am Kapillarende der Druck verringert wird [10, 31].

In dieser Arbeit kam die zuletzt genannte Variante durch Anlegen eines Drucks von 0,5 psi (3,45 kPa) am Kapillaranfang zum Einsatz.

Die Analytione werden nach Anlegen einer Spannung durch Elektrophorese aufgrund unterschiedlicher elektrophoretischer Mobilität in der Pufferphase im Inneren der Kapillare getrennt. Wird eine homogene elektrische Feldstärke im Inneren der Kapillare angenommen und Elektrophorese als Wanderung elektrisch geladener Kugeln in einem viskosen Medium beschrieben, so kann die Abhängigkeit der elektrophoretischen Mobilität eines Ions von der Ladung, dem Ionenradius und dem Medium, das es umgibt, näherungsweise durch Gleichung 3.2 beschrieben werden.

$$\mu = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad \text{Gleichung 3.2}$$

Legende: z : Ladungszahl des Ions
 e : Elementarladung
 η : Viskosität der Lösung
 r : Radius des Ions

Analytionen gleicher Mobilität bilden unter den gegebenen Bedingungen Zonen aus, weshalb diese Variante auch als Kapillarzonenelektrophorese (CZE) bezeichnet wird. Die Mobilität der Ionen wird durch Temperatur und Ionenstärke beeinflusst. Die Abhängigkeit der Mobilität von der Temperatur hängt fast ausschließlich mit der Temperaturabhängigkeit der Viskosität zusammen, das heißt mit zunehmender Temperatur nimmt die Mobilität zu [31]. Ein Tailing oder Fronting der Peaks kann durch Differenzen in Mobilität und Feldstärke zwischen Zonen- und Pufferphasen entstehen. Das Analogon zum Chromatogramm wird in der CE

Elektropherogramm genannt, aus Retentionszeiten werden Migrationszeiten. Die Auflösung zweier Zonen R wird nach Gleichung 3.3 berechnet.

$$R = 2 \frac{|t_{R_2} - t_{R_1}|}{w_2 - w_1} \quad \text{Gleichung 3.3}$$

Legende: t_{R_1} : Migrationszeit Analyt 1
 t_{R_2} : Migrationszeit Analyt 2
 w_1 : Peakbasisbreite Analyt 1
 w_2 : Peakbasisbreite Analyt 2

Während die Elektrophorese die Trennung von Teilchen unterschiedlicher Mobilität bewirkt, verursacht die Elektroosmose einen Fluss der Pufferlösung im elektrischen Feld. In den meisten Fällen ist in der CE die elektrophoretische Wanderung der Ionen durch den elektroosmotischen Fluss (EOF) überlagert. Dieser EOF hängt von der Verteilung der Ladungen in der Nähe der Kapillaroberfläche ab [31]. Die Oberfläche einer Quarzkapillare besteht aus einer großen Anzahl an Silanolgruppen, die je nach pH-Wert des Puffers deprotoniert werden können. Damit erhält die Oberfläche zahlreiche ortsfeste negative Ladungen, die durch eine Schicht Kationen an der Phasengrenze zum Puffer teilweise kompensiert werden. Es entsteht eine elektrische Doppelschicht, die nach dem Modell von Stern beschrieben werden kann. In dieser Doppelschicht überwiegen in Quarzkapillaren die positiven Ionen, die sich in einer starren Grenzschicht mit adsorbierten Ionen und einer beweglichen, diffusen Grenzschicht an der Oberfläche anreichern [31]. Das sich aufgrund der Ladungsverteilung aufbauende elektrische Potential nimmt gemäß der linearisierten Poisson-Boltzmann-Gleichung im Bereich der starren Grenzschicht linear und im Bereich der diffusen Grenzschicht exponentiell ab. Das elektrische Potential an der Scherfläche wird als ζ (Zeta)-Potential bezeichnet [31]. Bei Anlegen eines elektrischen Feldes wird eine elektrische Kraft auf die elektrisch geladenen Flüssigkeitsschichten ausgeübt, welche im stationären Fall genau durch die entgegengesetzt wirkende Reibungskraft kompensiert wird. Die gesamte Phase erfährt einen Fluss in Richtung Kathode, der sich dem Bewegungsvektor der Analytionen überlagert. Es bildet sich ein extrem flaches (stempelförmiges) Strömungsprofil aus. Dies führt zu einer wesentlich geringeren Bandenverbreiterung als bei hydrodynamischem Fluss, wo das stark vom Kapillarradius und der Strömungsgeschwindigkeit abhängige parabolische Hagen-Poiseuillesche-Strömungsprofil auftritt [31]. Die Wanderungsgeschwindigkeit u des EOF lässt sich vereinfacht mit Hilfe der sogenannten Helmholtz-Smoluchowski-Gleichung (Gleichung 3.4) beschreiben.

$$u = -\frac{\varepsilon \cdot E \cdot \zeta}{4 \cdot \pi \cdot \eta} \quad \text{Gleichung 3.4}$$

Legende: ε : elektrische Durchlässigkeit
 E : angelegte Feldstärke
 ζ : Zeta-Potential
 η : Viskosität der Lösung

Bei Quarzglaskapillaren sinkt die Mobilität des EOF mit zunehmender Konzentration des Elektrolyten und wächst mit dem Dissoziationsgrad der Oberflächensilanolgruppen, das heißt sie steigt mit dem pH-Wert stetig an [31].

Aufgrund des EOF ist in der CE der Detektor meist kathodenseitig angeordnet. Somit bewegen sich alle Kationen und die Anionen, deren absolute Wanderungsgeschwindigkeit geringer ist als die Strömungsgeschwindigkeit des EOF, mit dem EOF zum Detektor. Nur die Anionen, die schneller wandern als die Strömungsgeschwindigkeit des EOF, migrieren in das Anodengefäß und entziehen sich der Detektion. Durch Umpolung der Spannung können diese Ionen detektiert werden, während sich die Kationen und langsam wandernden Anionen der Detektion entziehen [31]. Für eine Analyse aller Anionen in einem Lauf kann der elektroosmotische Fluss unterdrückt oder umgekehrt werden. Dies geschieht entweder durch eine permanente Beschichtung der Kapillare mit einem kationischen Polymer oder durch eine dynamische Belegung mit kationischen Tensiden, die in einer Konzentration unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration dem Puffer zugegeben werden.

Kapillarelektrophorese wird häufig für die chirale Analyse verwendet, da durch einfache Zugabe eines Additivs zum Laufpuffer eine hohe Enantiomerenauflösung erreicht werden kann. Enantiomere verhalten sich wie „Bild und Spiegelbild“ zueinander und unterscheiden sich nicht in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften. Eine Trennung ist nur möglich, wenn eine chirale Umgebung erzeugt wird. Das Hauptaugenmerk bei Enantiomerentrennungen ist daher auf die Auswahl eines geeigneten optisch aktiven Mediums, eines so genannten chiralen Selektors, gerichtet [31]. Cyclodextrine und ihre Derivate werden häufig als chirale Selektoren in der Kapillarelektrophorese verwendet [27, 32, 33, 14, 15, 16, 17, 31]. Es handelt sich hierbei um cyclische Oligosaccharide mit einer äußeren hydrophilen Oberfläche und einem hydrophoben inneren Hohlraum [26]. Es handelt sich um Ringe aus sechs oder mehr D-Glucose-Einheiten, die alpha-1,4-glycosidisch verknüpft sind. Alpha-Cyclodextrin besteht aus sechs, beta-Cyclodextrin aus sieben und gamma-Cyclodextrin aus acht Glucoseeinheiten. Ihre Chiralität liegt in der Chiralität der

Glucoseuntereinheiten begründet [16]. In Abbildung 3.7 ist die chemische Struktur von beta-Cyclodextrin dargestellt.

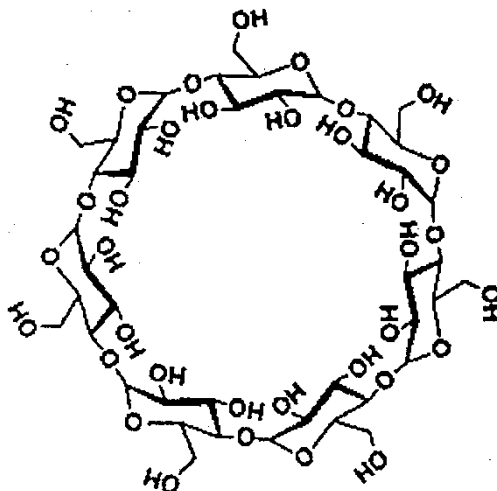


Abbildung 3.7: Strukturformel von beta-Cyclodextrin [32]

Native, das heißt underivatisierte Cyclodextrine sind elektrisch neutral und wandern mit dem EOF zur Kathode. Im Allgemeinen sind für die chirale Wechselwirkung der Analyte mit den Cyclodextrinen hydrophobe und ionische Wechselwirkungen, sterische Effekte und die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen verantwortlich. Bei der elektrophoretischen Wanderung des ionischen Analyten durch die „quasistationäre Phase“ (hier Cyclodextrin) erfolgt dann die Auftrennung des Enantiomerenpaares. Die chirale Trennung ist auf unterschiedliche Aufenthaltszeiten der Analyte im Cyclodextrin aufgrund unterschiedlicher Host-Guest-Stabilitätskonstanten der (+)- und (-)-Form zurückzuführen. Die Mobilitätsunterschiede und damit die Selektivität sind überwiegend von der Cyclodextrin-Konzentration, den Gleichgewichtskonstanten zwischen Analyt und chiralem Selektor, sowie den Mobilitätsunterschieden im komplexierten und nicht komplexierten Zustand des Analyten abhängig [31]. Negativ geladene Cyclodextrine besitzen eine eigene elektrophoretische Mobilität. Daher kann bei der Verwendung von negativ geladenen Cyclodextrinen als chirale Selektoren ein neutraler Analyt nach Ausbildung eines Host-Guest-Komplexes eine Mobilität relativ zum EOF erhalten. Durch Mehrfachladungen am Cyclodextrinanion sind auch Ionenpaarmechanismen möglich, die zu einer veränderten Selektivität und Migrationsreihenfolge verschiedener kationischer Enantiomere führen können [31]. Die Migrationsrichtung des Analyten hängt unter diesen Umständen stark von der Größe der Wechselwirkung zum Cyclodextrin ab. Bei hoher Affinität der kationischen Analyte zum

negativ geladenen Cyclodextrin werden diese mit dem negativen Cyclodextrin zur Anode transportiert [31].

In dieser Arbeit wurde die chirale Trennung der kationischen Analyte unter Verwendung einer Mischung aus negativ geladenem Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin und neutralem O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin durchgeführt.

Die obere Hälfte der Abbildung 3.8 zeigt den Ablauf der Trennung für kationische Enantiomere unter Verwendung neutraler Cyclodextrine, die untere Hälfte den Ablauf unter Verwendung negativ geladener Cyclodextrine.

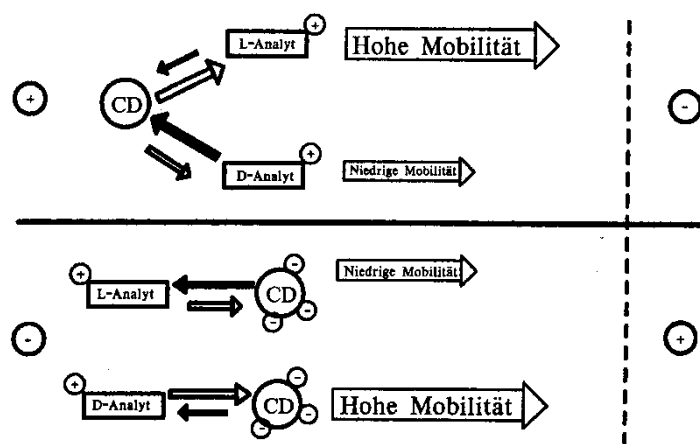


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung der Trennung kationischer Enantiomere mit Hilfe von neutralen beziehungsweise negativ geladenen Cyclodextrinen [31]

Die beiden optischen Detektionsmethoden UV-Absorption und laserinduzierte Fluoreszenzdetektion sind in der CE am weitesten verbreitet. Neben diesen Detektoren können unter anderem auch Leitfähigkeitsdetektoren oder elektrochemische Detektoren eingesetzt werden.

Bei der in dieser Arbeit verwendeten Kopplung der Kapillarelektrophorese mit der Massenspektrometrie muss, da aus der Kapillare nur sehr geringe Flüssigkeitsmengen eluieren, der Fluss durch einen Hilfsfluss, das so genannte Sheath Liquid, ergänzt werden. Durch die massenspektrometrische Detektion werden im Vergleich zu den herkömmlichen Detektoren eine höhere Empfindlichkeit sowie eine eindeutige Identifizierung der Analyte erreicht.

3.3.3 Massenspektrometrie

Bei der Massenspektrometrie handelt es sich um ein Verfahren zur Bestimmung der Massen von Atomen oder Molekülen. Der Analyt wird dabei ionisiert, die Ionen werden durch ein elektrisches Feld beschleunigt und nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) separiert. Das Massenspektrometer besteht normalerweise aus der Ionenquelle, dem Analysator und dem Detektor, der die zuvor separierten Ionen erfasst. Als Detektor dienen zum Beispiel Sekundärelektronenvervielfacher.

In der Ionenquelle wird der Analyt ionisiert. Dies kann unter anderem durch Elektronenstoßionisation, chemische Ionisation, Feldionisation, Teilchenbeschussmethoden, Elektrosprayionisation oder Photoionisation erfolgen. Bei dem in dieser Arbeit eingesetzten Massenspektrometer erfolgt die Ionisation durch Elektrosprayionisation. Hierbei wird die mit dem Sheath Liquid ergänzte Analytlösung durch eine Metallkapillare geleitet, an deren Spitze eine Spannung angelegt ist. Durch das so entstehende elektrische Feld bildet sich an der Kapillarspitze ein Überschuss gleichartig geladener Analytionen, die sich gegenseitig abstoßen und als feines Aerosol aus der Kapillare austreten. Stickstoff als neutrales Trägergas wird verwendet, um die Vernebelung der Lösung und die Verdampfung des Lösungsmittels zu unterstützen. Wird positive Spannung an der Kapillare angelegt, entstehen positiv geladene Ionen in der Gasphase, durch Anlegen einer negativen Spannung entstehen negativ geladene Ionen. Die erzeugten Ionen werden durch die entstehende Potentialdifferenz in das Massenspektrometer gelenkt. Bei der Elektrospray-Ionisation handelt es sich um eine schonende Ionisation, bei der kaum Fragmentierung stattfindet [34].

Im Analysator werden die Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis getrennt. Die Massenspektrometer werden je nach verwendetem Analysator kategorisiert. Es existieren unter anderem Sektorfeld-Massenspektrometer, Quadrupol-Massenspektrometer, Flugzeitmassenspektrometer und Ionenfallen-Massenspektrometer. In dieser Arbeit kam für die GC-MS-Messungen ein Quadrupol-Massenspektrometer und für die CE-ESI-MS-Messungen ein Ionenfallen-Massenspektrometer zum Einsatz. Quadrupolanalysatoren sind heute die bei weitem am häufigsten verwendeten Massenanalysatoren. Ein Quadrupol verhält sich wie ein variabler Schmalbandfilter. Er lässt für jede Kombination von Geräteeinstellungen nur Ionen in einem engen Bereich von m/z -Verhältnissen passieren. Alle anderen Ionen werden neutralisiert und als ungeladene Moleküle entfernt. Die elektrische Ansteuerung des Quadrupols erlaubt es, den Bereich der untersuchten m/z -Werte zu variieren, und so ein Abtasten des Spektrums zu ermöglichen. Da durch Quadrupole Ionen selektiv entfernt werden, bezeichnet man sie oft als Massenfilter anstatt als Massenanalysatoren [30].

In Ionenfallen-Massenspektrometern werden Anionen oder Kationen für längere Zeit durch elektrische und/oder magnetische Felder eingeschlossen. Eine einfache Ionenfalle besteht aus einer zentralen torusförmigen Ringelektrode und einem Paar Abschirmelektroden. An die Ringelektrode angelegt ist eine variable Hochfrequenzspannung, während die beiden Abschirmelektroden geerdet sind. Ionen mit geeignetem m/z -Wert zirkulieren in einer stabilen Umlaufbahn im durch den Ring begrenzten Raum. Wird die Hochfrequenzspannung erhöht, werden die schwereren Ionen stabilisiert, während die leichteren destabilisiert werden und infolgedessen auf die Wandung der Ringelektrode prallen. Wird diese Vorrichtung als Massenspektrometer betrieben, so tritt ein Schwall von Analytationen, erzeugt durch Elektronenstoß oder chemische Ionisation, durch ein Gitter in der oberen Abschirmung ein. Die Hochfrequenzspannung wird sodann kontinuierlich verändert, und die eingefangenen Ionen verlassen in dem Moment, indem sie destabilisiert werden, den Raum innerhalb der Ringelektrode durch Öffnungen in der unteren Abschirmung. Von hier gelangen die emittierten Ionen zum Detektor [30]. Eine Wiederholung von Anregung und Massenselektion ist möglich. Um Fragmentierungen zu studieren, kann in Ionenfallen ein Ion isoliert und ihm dann entweder durch Kollision mit Helium oder durch Strahlung Energie zugeführt werden. Das Ion zerfällt daraufhin sehr spezifisch zu anderen (leichteren) Ionen (Tochterfragmenten). Diese Technik wird als Tandemmassenspektrometrie (MS/MS oder MS^n) bezeichnet. Die Ionenfallen lassen sich weiter unterteilen in zum Beispiel Quadrupol-Ionenfalle, Linear Trap oder Orbitrap. Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Gerät handelt es sich um eine Quadrupol-Ionenfalle [34]. In Abbildung 3.9 ist der schematische Aufbau des verwendeten CE-ESI-MS Gerätes dargestellt.

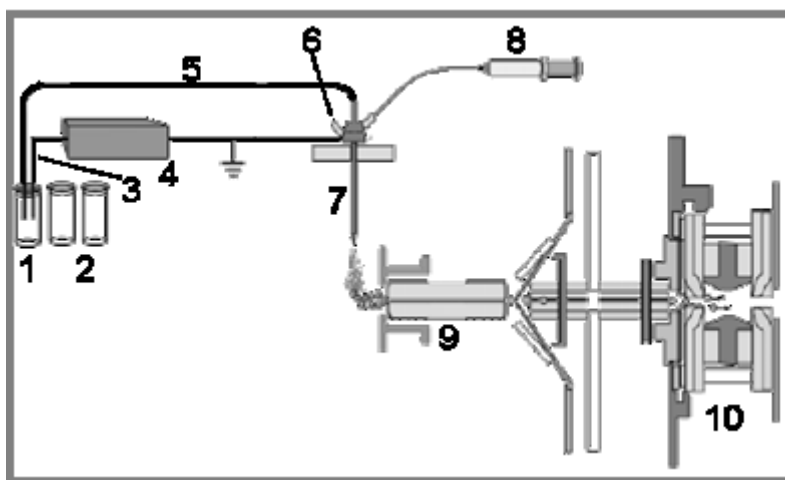


Abbildung 3.9: Aufbau CE-ESI-MS [Darstellung Rittgen]

Legende: 1: Einlasspuffergefäß; 2: Probengefäße; 3: Elektrode; 4: Hochspannungsquelle; 5: Kapillare; 6: Zerstäubergas; 7: Sprayer; 8: Sheath Liquid; 9: Desolvatationskapillare; 10: Ionenfalle

3.4 Chemometrische Datenauswertung

Als Chemometrie wird die chemische Teildisziplin bezeichnet, die mathematische und statistische Methoden verwendet, um optimal Versuche zu planen und um aus analytischen Messdaten ein Maximum an Informationen zu extrahieren [35]. Mathematische Verfahren in der Chemometrie sind unter anderem die lineare Regression, die Clusteranalyse und die Hauptkomponentenanalyse.

3.4.1 Lineare Regression

Ziel der linearen Regression ist die Feststellung einer linearen Beziehung zwischen einer unabhängigen Variable x und einer abhängigen Variable y . Dies spielt bei der Erstellung von Kalibriergeraden eine Rolle, wo die Abhängigkeit der Peakfläche von der Konzentration als Funktion dargestellt wird (Regression erster Ordnung). Ist Linearität gegeben, so sind die Peakflächen der Konzentration des Analyten direkt proportional. Die Linearität kann durch Berechnung des Korrelationskoeffizienten r (gleichbedeutend mit dem Pearson-Korrelationskoeffizient) überprüft werden. Dieser stellt ein Maß für die Stärke eines linearen Zusammenhangs dar und wird nach Gleichung 3.5 berechnet.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Gleichung 3.5}$$

Legende: N : Anzahl der Messungen (hier Anzahl der Konzentrationen)
 \bar{x} : Mittelwert der Variablen x (hier Konzentration)
 \bar{y} : Mittelwert der Variablen y (hier Peakfläche)

Er kann Werte zwischen +1 und -1 annehmen. $r = +1$ steht für einen positiven funktionalen Zusammenhang, $r = 0$ steht für keinen linearen Zusammenhang und $r = -1$ steht für einen negativen linearen Zusammenhang. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten beziehungsweise des Bestimmtheitsmaßes (für lineare Regression entspricht dieses gleich dem Quadrat des Korrelationskoeffizienten r) ist ein rein mathematisches Verfahren, und gibt daher nur einen Hinweis auf die Anpassung [36]. Überprüft werden kann die Linearität mit Hilfe des Linearitätstests nach Mandel. Dieser prüft, ob die Regression 2. Ordnung (quadratische Regression) signifikant besser ist als die Regression 1. Ordnung (lineare Regression). Zur Prüfung werden die jeweiligen Quadrate der Reststandardabweichungen aus linearer und quadratischer Regression verwendet. Der Test selbst ist ein F-Test. Nach Gleichung 3.6 wird über die Differenz der mit der Zahl der Freiheitsgrade korrigierten Abweichungsvarianzen der Mandelprüfwert (PW) berechnet.

$$PW = \frac{(N-2)s_{y_1}^2 - (N-3)s_{y_2}^2}{s_{y_2}^2} \quad \text{Gleichung 3.6}$$

Legende: s_{y_1} : Reststandardabweichung für Kalibrierfunktion 1. Grades (lineare Funktion)
 s_{y_2} : Reststandardabweichung für Kalibrierfunktion 2. Grades (quadratische Funktion)
 N : Anzahl der Messungen (hier Anzahl der Konzentrationen)

Die für die Berechnung des Prüfwertes notwendigen Definitionen und Hilfsgrößen sind im Folgenden aufgeführt:

Hilfsgrößen:

$$Q_{xx} = \sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{1}{N} \cdot \left(\sum_{i=1}^N x_i \right)^2 \quad \text{Gleichung 3.7}$$

$$Q_{yy} = \sum_{i=1}^N y_i^2 - \frac{1}{N} \cdot \left(\sum_{i=1}^N y_i \right)^2 \quad \text{Gleichung 3.8}$$

$$Q_{xy} = \sum_{i=1}^N (x_i \cdot y_i) - \left(\frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N x_i \cdot \sum_{i=1}^N y_i \right) \quad \text{Gleichung 3.9}$$

$$Q_{x^3} = \sum_{i=1}^N x_i^3 - \left(\frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N x_i \cdot \sum_{i=1}^N x_i^2 \right) \quad \text{Gleichung 3.10}$$

$$Q_{x^4} = \sum_{i=1}^N x_i^4 - \left(\frac{1}{N} \cdot \left(\sum_{i=1}^N x_i^2 \right)^2 \right) \quad \text{Gleichung 3.11}$$

$$Q_{x^2y} = \sum_{i=1}^N (x_i^2 \cdot y_i) - \left(\frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N y_i \cdot \sum_{i=1}^N x_i^2 \right) \quad \text{Gleichung 3.12}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N x_i \quad \text{Gleichung 3.13}$$

$$\bar{y} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N y_i \quad \text{Gleichung 3.14}$$

Reststandardabweichung s_y für Regression 1. Grades:

$$s_y = \sqrt{\frac{1}{N-2} \left(Q_{xx} - \frac{Q_{xy}^2}{Q_{xx}} \right)} \quad \text{Gleichung 3.15}$$

Reststandardabweichung s_y für Regression 2. Grades

$$s_y = \sqrt{\frac{1}{N-3} \cdot \left(\sum_{i=1}^N y_i^2 - a \cdot \sum_{i=1}^N y_i - b \cdot \sum_{i=1}^N x_i y_i - c \cdot \sum_{i=1}^N x_i^2 y_i \right)} \quad \text{Gleichung 3.16}$$

Mit Achsenabschnitt

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x} - \frac{c}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2 \quad \text{Gleichung 3.17}$$

Koeffizient für x

$$b = \frac{Q_{xy} - c \cdot Q_{x^3}}{Q_{xx}} \quad \text{Gleichung 3.18}$$

Koeffizient für x^2

$$c = \frac{Q_{xy} \cdot Q_{x^3} - Q_{x^2y} \cdot Q_{xx}}{(Q_{x^3})^2 - Q_{xx} \cdot Q_{x^4}} \quad \text{Gleichung 3.19}$$

Der errechnete Mandel-Prüfwert wird nun mit dem entsprechenden Wert aus der F-Tabelle (Freiheitsgrad $f_1 = 1$, $f_2 = N-3$, $P = 99\%$) verglichen. Ist er niedriger als der tabellierte Wert, so kann Linearität für den untersuchten Konzentrationsbereich angenommen werden. Ist der

berechnete Wert größer als der tabellierte Wert, so muss mit gewichteter Regression gerechnet werden [37].

3.4.2 Clusteranalyse

Mit Hilfe der Clusteranalyse können Ähnlichkeiten oder Unterschiede in einem Datensatz mit einer großen Anzahl an Variablen (in dieser Arbeit entsprechen die Variablen den Targekomponentgehalten) und Proben gefunden werden. Die Proben werden nach Ähnlichkeit gruppiert, dies macht eine Zuordnung von Proben zu einer Objektklasse möglich. Die entstandenen Gruppen werden als Cluster bezeichnet. Bei der Clusteranalyse werden neue Gruppen in den Daten identifiziert, man spricht von einem „uninformierten Verfahren“, da es nicht auf Klassen-Vorwissen angewiesen ist [35]. Um die Ähnlichkeit der Proben beurteilen zu können, werden Distanzmaße oder Ähnlichkeitsmaße verwendet [35]. Ein häufig für den Materialvergleich von Rauschgiften herangezogenes Distanzmaß ist die Euklidische Distanz. Ein üblicherweise auf diesem Gebiet angewendetes Ähnlichkeitsmaß ist der Pearson-Korrelationskoeffizient [38, 39]. Zur Berechnung von Distanz- und Ähnlichkeitsmaßen müssen die verwendeten Variablen (hier Peakflächen der Targetkomponenten) normiert werden, damit die Abweichungen in großen Variablen nicht zu gering bewertet werden. Der Euklidische Abstand ist als Distanzfunktion über zwei Vektoren definiert und berechnet sich nach Gleichung 3.20. Je geringer die errechnete Distanz, desto ähnlicher sind sich die Proben.

$$d_{x,y} = \sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - y_i)^2} \quad \text{Gleichung 3.20}$$

Legende: x : Konzentration Targetkomponente in Probe 1
 y : Konzentration Targetkomponente in Probe 2
 N : Anzahl der Targetkomponenten

Der Pearson-Korrelationskoeffizient entspricht dem Korrelationskoeffizient und wird nach Gleichung 3.5 berechnet. In diesem Fall entspricht x der Konzentration der Targetkomponente in Probe 1 und y der Konzentration der Targetkomponente in Probe 2. N entspricht der Anzahl der Targetkomponenten. Da es sich beim Pearson-Korrelationskoeffizient um ein Ähnlichkeitsmaß handelt, sind sich die Proben ähnlicher, je näher der berechnete Wert für r an 1 liegt.

Durch Anwendung der oben beschriebenen Distanz- beziehungsweise Ähnlichkeitsmaße werden aus den Distanzen beziehungsweise Ähnlichkeiten der einzelnen Variablen

(Targetkomponentengehalte) Gesamtdistanzen beziehungsweise Gesamtähnlichkeiten zwischen zwei Proben ermittelt. Der berechnete Distanz- beziehungsweise Ähnlichkeitswert wird auch als Proximität bezeichnet. Werden alle Proben miteinander verglichen, so ergibt sich eine Proximitätsmatrix, die jeweils zwei Proben eine Proximität zuweist.

Um nun Gruppierungen der Proben zu erhalten, werden Linkage-Verfahren zur Clusterbildung verwendet. Ein häufig angewendetes Verfahren ist das agglomerative hierarchische Clusterverfahren. Hierbei bildet zunächst jedes Objekt einen Cluster. Es werden dann schrittweise die bereits gebildeten Cluster zu immer größeren zusammengefasst, bis alle Objekte (Proben) zu einem Cluster gehören. Hierbei kommen verschiedene Fusionierungsalgorithmen zur Bestimmung des Abstandes zwischen zwei Clustern zum Einsatz. Gängige Algorithmen sind zum Beispiel das Single-Linkage-Verfahren, das Complete-Linkage-Verfahren und das k-nearest-neighbour-Verfahren.

Zur Visualisierung der bei einem hierarchischen Clustering entstehenden Baumstruktur werden Dendrogramme verwendet.

3.4.3 Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Auch die Hauptkomponentenanalyse dient zur Feststellung von Ähnlichkeiten oder Unterschieden in einem Datensatz mit einer großen Anzahl an Variablen (Targetkomponentengehalten) und Proben. Auch hier werden die Proben nach Ähnlichkeit gruppiert. Es handelt sich ebenfalls um ein „uninformiertes Verfahren“. Auch hierfür werden die für den Materialvergleich herangezogenen, in den Proben enthaltenen Targetkomponenten quantifiziert und die erhaltenen Daten für jede Substanz jeweils auf die Summe aller in der entsprechenden Probe enthaltenen Targetkomponenten-Peakflächen normiert. PCA ist eine mathematische Projektionstechnik um die Varianz einer Datenmatrix darzustellen.

3.4.3.1 Grundlagen

Ziel der Hauptkomponentenanalyse ist es, die m Variablen der Datenmatrix durch eine geringere Anzahl untereinander unkorrelierter Hauptkomponenten (PCs) so darzustellen, dass der ursprüngliche Informationsgehalt weitgehend erhalten bleibt. Voraussetzung hierfür ist, dass Zusammenhänge zwischen den Variablen der Datenmatrix bestehen. Diese Zusammenhänge werden in der Kovarianz- beziehungsweise Korrelationsmatrix dargestellt. Häufig kann der größte Teil der Information der ursprünglichen Datenmatrix durch die ersten beiden Hauptkomponenten widerspiegelt werden, wodurch eine zweidimensionale graphische Abbildung des ursprünglich hochdimensionalen Datensatzes ermöglicht wird. Die

Variablen werden als Linearkombination der orthogonalen Hauptkomponenten beschrieben. Die zentrierte (beziehungsweise standardisierte) Datenmatrix X wird durch das Produkt aus der Faktorwertematrix P (Scores) und der Faktorladungsmatrix A dargestellt (Loadings). Die Ladung ist ein Maß für die Korrelation zwischen den entsprechenden Hauptkomponenten und Variablen [40].

$$X = PA^T \quad \text{Gleichung 3.21}$$

Die Originaldatenmatrix X besteht aus n Zeilen (Proben) und m Spalten (Targetkomponentenkonzentration). P stellt die Scores-Matrix mit n Zeilen und h Spalten dar. Diese Spaltenanzahl repräsentiert die Anzahl der orthogonalen Hauptkomponenten (PCs). A stellt die Loading-Matrix mit h Spalten und m Zeilen dar. A^T ist die transponierte Matrix von A . Die Dimensionalität der ursprünglichen Datenmatrix X wurde reduziert. Die Spalten in P repräsentieren die Score-Vektoren (Hauptkomponenten) und die Zeilen in A werden Loading-Vektoren (Ladungs- oder Gewichtsvektoren) genannt. Beide Vektoren sind orthogonal zueinander ($p_i^T p_j = 0$ und $a_i^T a_j = 0$ für i ungleich j) [35].

Durch diese lineare Transformation wird zunächst noch keine Dimensionsreduzierung erreicht. Diese entsteht erst dadurch, dass diejenigen Hauptkomponenten weggelassen werden, die nur einen geringen Anteil an der Gesamtvarianz des Originaldatensatzes besitzen [40]. Die Daten werden so rekonstruiert, dass neue, unkorrelierte Variablen entstehen. Die Hauptkomponenten (PCs) werden bestimmt, indem die Varianzen zwischen den Ausgangsvariablen maximiert werden. PC 1 repräsentiert die größte Varianz innerhalb der Datenmatrix, PC 2 repräsentiert die zweitgrößte Varianz und steht orthogonal zu PC 1, und so weiter. Die Hauptkomponenten lassen sich als Projektionen der Ausgangsmatrix X auf die Scores P auffassen:

$$P = XA \quad \text{Gleichung 3.22}$$

Die neuen Werte sind Linearkombinationen der zentrierten Originalvariablen mit den Ladungsvektoren (Elemente PC1):

$$\begin{aligned}
p_{11} &= x_{11}a_{11} + x_{12}a_{21} + \cdots + x_{1m}a_{m1} \\
p_{21} &= x_{21}a_{11} + x_{22}a_{21} + \cdots + x_{2m}a_{m1} \\
&\vdots \\
p_{n1} &= x_{n1}a_{11} + x_{n2}a_{21} + \cdots + x_{nm}a_{m1}
\end{aligned}
\tag{Gleichung 3.23}$$

In vielen Fällen enthalten die ersten beiden Hauptkomponenten den größten Anteil an der Gesamtvarianz, dies ist jedoch abhängig von der Komplexität der ursprünglichen Datenmatrix.

Geometrisch kann die Hauptkomponentenanalyse als Rotation des m -dimensionalen Koordinatensystems der Originalvariablen in das neue Koordinatensystem der Hauptkomponenten interpretiert werden. Die neuen Achsen werden dabei so aufgespannt, dass die erste Hauptkomponente p_1 in Richtung der maximalen Varianz der Daten zeigt. Die weiteren Hauptkomponenten $\{p_2, p_3, \dots, p_m\}$ stehen jeweils senkrecht (orthogonal) dazu und weisen in Richtung der jeweils verbleibenden maximalen Varianz. Die Achsen mit nur geringen Varianzanteilen werden üblicherweise nicht berücksichtigt, so dass ein Subraum im Raum der Originaldaten gebildet wird [40].

Orthogonale Rotationstransformationen und damit die Hauptkomponentenanalyse lassen sich auf ein Eigenwertproblem zurückführen, wobei die Spalten der Faktorladungsmatrix durch die Eigenvektoren der Kovarianz- bzw. Korrelationsmatrix gebildet werden. Der Betrag der Eigenwerte ist ein direktes Maß für den Varianzanteil eines Faktors an der Gesamtvarianz der Datenmatrix. Meist zeigt der Plot der Eigenwerte in Abhängigkeit von der Anzahl der Faktoren (Screeplot) einen Punkt, ab dem die Funktion flacher verläuft. Der Beitrag der Hauptkomponenten rechts dieses Punktes wird als vernachlässigbar angesehen [40].

Die Bestimmung der Hauptkomponenten erfolgt häufig iterativ, andere Verfahren – wie die Singulärwertzerlegung (SVD) oder das Partial-Least-Square -Verfahren – werden jedoch auch angewendet [35].

Die Ergebnisse der PCA werden durch zwei kleinere Matrizen dargestellt, die in Diagrammen visualisiert werden. Das eine Diagramm visualisiert die Beziehung der Proben untereinander, es werden die Hauptkomponentenwerte im Koordinatensystem der Hauptkomponenten dargestellt (Scoreplot). Der Plot kann daher, ähnlich wie die Clusteranalyse, zum Aufdecken von Gruppierungen innerhalb der Objekte verwendet werden. Das zweite Diagramm zeigt auf, welche Variablen (Targets) verantwortlich für die Verteilung der Proben im ersten Diagramm sind. Es werden durch Auftragen der Ladungen im Koordinatensystem der Hauptkomponenten die Anteile der Variablen an den entsprechenden Hauptkomponenten dargestellt (Loadingsplot). Variablen, die in der Nähe des Ursprungs liegen, haben nur einen

geringen Einfluss auf die aufgetragenen Hauptkomponenten, während Variablen, die im Ladungsplot ähnliche Beträge aufweisen, vergleichbare Anteile an den dargestellten Hauptkomponenten haben [40].

3.4.3.2 Mathematisches Modell

Bei der Untersuchung von m Variablen (Merkmalen, hier Targetkomponentgehalten) an n Proben erhält man eine Matrix der Größe $n \times m$:

$$X = \begin{matrix} & \xrightarrow{j = 1 \dots m} \\ \begin{bmatrix} x_{1\ 1} & x_{1\ 2} & \cdots & x_{1\ m} \\ x_{2\ 1} & x_{2\ 2} & \cdots & x_{2\ m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n\ 1} & x_{n\ 2} & \cdots & x_{n\ m} \end{bmatrix} & \downarrow i = 1 \dots n \end{matrix} \quad \text{Gleichung 3.24}$$

Die Zeilen entsprechen hierbei den Fällen oder Objekten (Proben) und die Spalten den Variablen oder Merkmalen (Targetkomponentgehalten). Die Zeilen bilden Merkmalsvektoren der Dimension m und die Spalten Messreihen eines Merkmals an n Objekten [40].

Diese Datenmatrix X wird für die Durchführung der Hauptkomponentenanalyse zunächst zentriert. Für die Zentrierung wird von jeder Variablen der Mittelwert subtrahiert, so dass die transformierten Variablen den Mittelwert $\bar{x}'_j = 0$ besitzen.

$$x'_{ij} = x_{ij} - \bar{x}_j; \quad i = 1, \dots, n; \quad j = 1, \dots, m \quad \text{Gleichung 3.25}$$

Nun erfolgt die Umwandlung der zentrierten Matrix X in die Kovarianzmatrix C . In der Kovarianzmatrix werden die paarweisen Zusammenhänge der Variablen einer Datenmatrix dargestellt. Man erhält sie, indem für alle Variablenpaare die Kovarianz $cov(x_i, x_j) = s_{ij} = s_i s_j$ nach

$$s_{ij} = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^m (x_{ik} - \bar{x}_i)(x_{jk} - \bar{x}_j) \quad \text{Gleichung 3.26}$$

berechnet wird. Die $m \times m$ Kovarianzmatrix C ist symmetrisch (da $s_{ij} = s_{ji}$), die Diagonale wird durch die Varianzen $var(x_i) = s_i^2$ gebildet.

$$C = \begin{bmatrix} \text{var}(x_1) & \text{cov}(x_1, x_2) & \cdots & \text{cov}(x_1, x_m) \\ \text{cov}(x_2, x_1) & \text{var}(x_2) & \cdots & \text{cov}(x_2, x_m) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \text{cov}(x_m, x_1) & \text{cov}(x_m, x_2) & \cdots & \text{var}(x_m) \end{bmatrix} \quad \text{Gleichung 3.27}$$

Ausgehend von der zentrierten Datenmatrix X kann C mit Hilfe der Matrixschreibweise auch dargestellt werden als

$$C = \frac{X^T X}{n - 1} \quad \text{Gleichung 3.28}$$

Die hieraus erhaltene Kovarianzmatrix wird nun durch zwei kleinere Matrizen angenähert. Die Spalten der ersten Matrix stehen für die Vektoren der Hauptkomponentenwerte und die Spalten der zweiten Matrix für die Ladungsvektoren. Da es sich bei den Hauptkomponenten um Projektionen der Ausgangsmatrix handelt und die Achsen des neuen Raumes den auf die Varianz der Ausgangsdaten maximierten Eigenvektoren und die Varianzen entlang dieser Achsen somit den Eigenwerten entsprechen, entspricht die Bestimmung der Hauptkomponenten der Lösung eines Eigenwertproblems. Sie erfolgt häufig iterativ. Die Suche nach den m Hauptkomponenten der $m \times n$ Datenmenge entspricht der Suche nach m unkorrelierten Linearkombinationen der Vektoren $\{x_1, \dots, x_m\}$ mit maximaler Varianz. Es müssen folglich m m -dimensionale Vektoren a_i gefunden werden, so dass die Varianz von $p_i = a_i a_i + \dots + a_m x_m = a_i^T X$ maximal wird. P_i sind die Hauptkomponenten der Datenmenge.

Die Optimierungsaufgabe lässt sich unter Verwendung der Kovarianzmatrix iterativ unter Zuhilfenahme des Lagrange-Ansatzes lösen. Als Ergebnis erhält man $\{a_1, \dots, a_m\}$ als Hauptvektoren und damit die Hauptkomponenten sowie deren Varianzen $\{\lambda_1, \dots, \lambda_m\}$. Mit Gleichung 3.29 lässt sich der Anteil der k -ten Hauptkomponente an der Gesamtvarianz ermitteln. Daraus lässt sich die Anzahl der relevanten Hauptkomponenten abschätzen (Screeplot).

$$\frac{\lambda_k}{\lambda_1 + \dots + \lambda_m} \quad \text{Gleichung 3.29}$$

Für die mathematische Herleitung sei auf die Literatur verwiesen [41].

Alternativ kann auch von der Korrelationsmatrix anstatt von der Kovarianzmatrix ausgegangen werden.

Wird bei der Berechnung der Kovarianzmatrix von der standardisierten Datenmatrix $Z = [z_{ij}]$ ausgegangen, so erhält man die Korrelationsmatrix R .

$$R = \frac{Z^T Z}{n-1} = \begin{bmatrix} 1 & r_{12} & \cdots & r_{1m} \\ r_{21} & 1 & \cdots & r_{2m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ r_{m1} & r_{m2} & \cdots & 1 \end{bmatrix} \quad \text{Gleichung 3.30}$$

Die Variablen der standardisierten Datenmatrix Z besitzen den Mittelwert $\bar{z}_j = 0$ und die Standardabweichung $s_j = 1$ [40].

$$z_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j}; \quad i = 1, \dots, n; \quad j = 1, \dots, m \quad \text{Gleichung 3.31}$$

4 Untersuchung kontrolliert synthetisierter MDMA-Proben mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie

In diesem Teil der Arbeit geht es darum, den Einfluss unterschiedlicher Synthesebedingungen auf das chemische Verunreinigungsprofil von MDMA zu untersuchen. Hierfür wird Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie eingesetzt.

Die verwendete Analysenmethode ist eine bereits existierende und für den Materialvergleich von MDMA in der Routine weltweit eingesetzte Methode. Diese wurde während des EU-Projektes CHAMP (Collaborative Harmonisation of Methods for Profiling of Amphetamine type stimulants) optimiert und harmonisiert. An diesem EU-Projekt (6. Framework-Programm der europäischen Kommission, Vertrag Nr. 502126) nahmen die kriminaltechnischen Polizeibehörden der Länder Finnland, Schweiz, Niederlande, Tschechien, USA, Frankreich und Deutschland teil. Ziel des Projektes war die Harmonisierung von Analysemethoden für den Materialvergleich von Ecstasy-Tabletten und Metamfetamin. Die Entwicklung der GC-MS-Methode für den organischen Materialvergleich von MDMA erfolgte bereits im Vorfeld des Projektes in den Niederlanden [3], die weiterführende Optimierung fand im Rahmen des Projektes in den Niederlanden und in Finnland statt. An der Datenerhebung für die Harmonisierung beteiligten sich neben den Niederlanden und Finnland auch die Schweiz, Frankreich und Deutschland. Die Messungen für Deutschland fanden im Rahmen dieser Arbeit beim Bundeskriminalamt Wiesbaden im Fachbereich KT 34 (Toxikologie) statt.

Es ist bekannt, dass die Syntheseparameter wie zum Beispiel die verwendete Syntheseroute oder die verwendeten Chemikalien und Vorläufersubstanzen Einfluss auf das organische Spurenverunreinigungsprofil des Endproduktes haben [23, 25]. Auf dieser Tatsache beruht das chemische Impurityprofiling von MDMA-Proben. Aber auch bei Verwendung derselben Syntheseroute und identischen Vorläufersubstanzen können sich die Synthesebedingungen – wie zum Beispiel die Reaktionstemperatur oder die Reaktionszeit – ändern [20]. Ebenso ist bekannt, dass Änderungen der Reaktionsbedingungen bei der reduktiven Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff zu unterschiedlichen Isotopenverhältnissen von Wasserstoff ($^2\text{H}/^1\text{H}$), Kohlenstoff ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) und Stickstoff ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) im Endprodukt führen [8]. Im Folgenden wird nun systematisch der Einfluss unterschiedlicher Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Druck, Reaktionszeit, chemischer Ursprung der Vorläufersubstanz (Edukt-Charge) sowie der Einfluss unterschiedlicher Bedingungen während des Kristallisationsschrittes der MDMA-Base zum MDMA-Salz auf das chemische Profil der organischen Verunreinigungen (Targets

beziehungsweise Targetkomponenten) untersucht. In jüngster Zeit erschien eine Veröffentlichung, in der der Einfluss unterschiedlicher Synthesebedingungen auf das gesamte organische Spurenverunreinigungsprofil von mittels reduktiver Aminierung synthetisierten MDMA-Hydrochloriden bereits beschrieben ist [9]. Daher wird in dieser Arbeit der Schwerpunkt auf die Untersuchung des Einflusses der unterschiedlichen Synthesebedingungen auf die Konzentration der einzelnen Targetkomponenten gelegt, und die Ergebnisse werden mit den Ergebnissen bei Verwendung von zweidimensionaler Gaschromatographie verglichen [42].

Der Fokus wird auf die Veränderung des chemischen Profils der Verunreinigungen während der illegalen Synthese von MDMA mittels reduktiver Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff gelegt, da diese die am häufigsten verwendete Syntheseroute für die illegale Produktion von MDMA-Hydrochlorid ist. Auch wird der Einfluss unterschiedlicher Fällungsbedingungen auf das Spurenverunreinigungsprofil untersucht. Weiterhin werden die Konsequenzen dieser Veränderungen der chemischen Profile für die vergleichende Analyse diskutiert.

4.1 Durchführung

Um den Einfluss unterschiedlicher Reaktionsbedingungen auf Vorkommen und Konzentration bestimmter Targetkomponenten untersuchen zu können, ist eine präzise Analysemethode wichtig. Die Gaschromatographie gekoppelt mit der Massenspektrometrie ist die in der Routine für das Impurityprofiling von MDMA eingesetzte Methode [43, 44, 45, 25, 46, 47, 48, 49, 50, 51]. Die in dieser Arbeit verwendete GC-MS-Methode [3] wurde während des EU-Projektes CHAMP harmonisiert, so dass die erhaltenen Ergebnisse vergleichbar sind und für weitere Vergleiche zum Zweck der Überwachung des Rauschgiftmarktes sowie für das Monitoring von Distributionswegen in eine Datenbank eingestellt werden können [52]. Die Methode ist im Folgenden beschrieben.

4.1.1 Probenvorbereitung

Die Proben wurden vor der Messung extrahiert, um den Hauptwirkstoff MDMA abzutrennen und die Spurenverunreinigungen aufzukonzentrieren. Eine Menge von 200 mg homogenisierten MDMA-Pulvers wurde mit 4 ml Phosphatpuffer (pH 7 mit einer Konzentration von 0,33 mol/L) versetzt. Die Mischung wurde geschüttelt, für 10 Minuten ultraschallbehandelt und bei 4500 Umdrehungen für 8 Minuten zentrifugiert. Danach wurde sie gefiltert (Spritzenfilter mit 0,45 µm Porengröße, Schleicher & Schuell, Dassel,

Deutschland), um im Falle von Tabletten die unlöslichen Bestandteile (Cellulose, Palmitat-, und Stearatsalze) zu entfernen. Dieser Schritt ist bei der Untersuchung reiner MDMA-Hydrochloride nicht notwendig. Er wurde in dieser Arbeit daher nicht durchgeführt. Die Lösung wurde anschließend mit 400 µL Toluol extrahiert. Dieses enthielt Eicosan als internen Standard in einer Konzentration von 20 mg/L. Nach 20-minütigem Rotationsschütteln und 3-minütigem Zentrifugieren bei 3500 Umdrehungen pro Minute wurde die organische Phase für die GC-Analyse abgenommen. Dieses Extraktionsverfahren wurde während des europäischen Projekts CHAMP harmonisiert und optimiert [52]. Die hier untersuchten MDMA-Basen wurden vor den Messungen lediglich mit interner Standardlösung verdünnt, da das oben beschriebene Extraktionsverfahren nur für MDMA-Salze geeignet ist.

4.1.2 GC-MS-Methode

Die GC-MS-Messungen wurden mit einem Agilent 6890N Gaschromatograph gekoppelt an ein Quadrupolmassenspektrometer unter Verwendung einer DB-1MS-Trennsäule durchgeführt (GC-MS-Gerät II). Nähere Beschreibungen zu dem verwendeten Gerät befinden sich im Anhang (Abschnitt 12.1.5). Die Proben (2 µl) wurden mit splitloser Injektion bei 250 °C aufgegeben. Die Temperatur des Ofens startete bei 90 °C, wurde dort für eine Minute gehalten und während der Messung um 8 °C pro Minute bis auf 300 °C erhöht. Dort wurde sie noch einmal für 10 Minuten gehalten. Diese GC-MS-Methode wurde von Van Deursen et al. [3] entwickelt und während des EU-Projekts CHAMP harmonisiert.

4.1.3 Datenbehandlung und statistische Auswertung

Die erhaltenen organischen Spurenverunreinigungsprofile wurden nicht durch visuellen Vergleich der erhaltenen Chromatogramme verglichen, sondern es wurden nur ausgewählte Targets berücksichtigt. Bei diesen Targets handelt es sich um organische Verunreinigungen, die sich während der Synthese von MDMA gebildet haben und häufig in MDMA-Hydrochloridproben zu finden sind [3]. Diese 44 Komponenten sind in Tabelle 5.2 aufgeführt. Die zugehörigen Strukturformeln sind im Anhang (Abschnitt 12.6) abgebildet. Im Rahmen des EU-Projektes CHAMP wurde die Reproduzierbarkeit der Peakflächen dieser Targetkomponenten ermittelt. Vereinzelte Targetkomponenten hatten relative Standardabweichungen von über 20 %. Die Anzahl der Targets wurde daraufhin gemäß RSD-Werten unter 20 % auf 32 reduziert, um die Reproduzierbarkeit des Verfahrens zu gewährleisten. In einem weiteren Schritt konnten die 32 stabilen Targets auf 8 Targets

reduziert werden, da diese das gleiche Diskriminierungspotential besitzen wie die 32 Targets [38]. In dieser Arbeit wurden jedoch alle 44 ursprünglichen Targetkomponenten berücksichtigt, da der Einfluss sich ändernder Reaktionsbedingungen auf alle Targets untersucht werden soll.

Tabelle 4.1 : Verwendete Targetkomponenten (Strukturformeln siehe Anhang Abschnitt 12.6)

Targetkomponente
Safrol
1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-propan
Piperonal
Piperonyl-methyl-ether
3,4-Methylenedioxyphenylmethanol
Isosafrol-2
N-Methyl-3,4-methylenedioxy-benzylamin
3,4-Methylenedioxy-acetophenon
para-Methoxy-MA
Unknown-176
3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanon
MDA
3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol
3,4-Methylenedioxyphenyl-1-propanol
3,4-Dimethoxy-benzylmethylketon
3-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-3-buten-2-on (Unknown-147)
Methylenedioxyethylamfetamin (MDEA)
Trimethyl-3,4-methylenedioxy-chroman
Dimethyl-MDA
2-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-1-methylethylacetat
3-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2-oxopropansäure
4-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-5-methyl-1,3-dioxolan-2-on
3,4-Dimethoxy-MA
3,4-Methylenedioxy-Benzylmethylketoxim
5-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-4-methylpent-4-en-2-on
N-[2-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-1-methylvinyl]-N,N-dimethylamin
N-Methyl-3,4-methylenedioxyphenylalanin

Targetkomponente
4-(3,4-Methylenedioxy)but-3-en-2-on
5-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2,2,3,4-tetramethyl-1,3-oxazolidin
N-Methyl-N-formyl-3,4-methylenedioxy-benzylamin
Trimethoxy-MA
3,4-Methylenedioxy-5-methoxy-MA
N-Methyl-N-acetyl-3,4-methylenedioxy-benzylamin
N-Formyl-MDA
N-Acetyl-MDA
N-Formyl-MDMA
N-Acetyl-MDMA
N-(3,4-MD-Phenylmethyl)-N-[2-(3,4-MD-phenyl)-1-methylethyl]-N-methylamin (Unknown-192)
di-[1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2-propyl]-amin (1)
di-[1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2-propyl]-amin (2)
Unknown-192b
di-[1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2-propyl]-methylamin (1+2)
Unknown-218
Unknown-178

Nach der Messung wurden die Peakflächen der Targetkomponenten auf festgelegten Massenspuren integriert und auf die Summe aller Targetpeakflächen normiert [3]. Aus diesem Wert wurde zweimal die Wurzel gezogen, um den Einfluss großer Peaks zu reduzieren. Die normierten Daten wurden für die vergleichenden Untersuchungen weitergehend statistisch ausgewertet.

4.1.4 Validierung

Wie bereits beschrieben, handelt es sich bei der hier verwendeten GC-MS-Methode um eine in der Routine für den Materialvergleich von MDMA bereits etablierte Methode. Diese wurde im Rahmen des EU-Projektes CHAMP harmonisiert, um vergleichbare Daten für den Materialvergleich zu erhalten. Die Reproduzierbarkeitsmessungen zur Validierung der Methode wurden für das EU-Projekt im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt. Hierfür wurde eine MDMA-HCl-Kontrollprobe sechs Mal an einem Tag und an sechs verschiedenen Tagen extrahiert und gemessen. Die relativen Standardabweichungen der normierten Peakflächen für die Targetkomponenten sind in Tabelle 4.2 aufgeführt. MDA wurde aufgrund der hohen

Standardabweichung im Laufe des Projektes nicht mehr als Targetkomponenten verwendet. Die gesamten Werte für die Reproduzierbarkeitsmessungen innerhalb des EU-Projektes für alle teilnehmenden Partner befinden sich in [52].

Tabelle 4.2 : Relative Standardabweichung der normierten Peakflächen für die Targetkomponenten
Messbedingungen: Probenaufgabe: 2 µl splitlos bei 250 °C; Temperaturprogramm: 90 °C bis 300 °C; Erhöhung um 8 °C pro Minute; DB-1MS-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,33 µm) + unbelegte Vorsäule (2m x 250 µm); Trägergas: Helium bei einer Geschwindigkeit von 31cm/s; Transferlinientemperatur: 310 °C; Ionenquellentemperatur: 230 °C; Massenbereich: 35-400 m/z

Targetkomponente	RSD (ein Tag)	RSD (verschiedene Tage)
Piperonal	0,5%	0,5%
3,4-MD-phenylmethanol	3,0%	5,8%
3,4-MD-acetophenon	0,2%	1,8%
3,4-MD-phenyl-2-propanon	0,8%	3,0%
MDA	6,2%	25,2%
3,4-MD-phenyl-2-propanol	0,7%	1,8%
Trimethyl-3,4-MD-chroman	2,3%	2,8%
Dimethyl-MDA	5,8 %	5,2 %
3,4-MD-benzylmethylketoxim	6,0 %	9,3 %
4-(3,4-MD)-but-3-en-2-on	1,3 %	8,9 %
N-Methyl-N-formyl-3,4-MD-benzylamin	4,1 %	9,7 %
N-Methyl-N-acetyl-3,4-MD-benzylamin	2,4 %	9,2 %
N-Formyl-MDA	6,5 %	9,2 %
N-Formyl-MDMA	1,2 %	1,2 %
N-Acetyl-MDMA	0,2 %	0,5 %
N-(3,4-MD-phenylmethyl)-N-[2-(3,4-MD-phenyl)-1-methylethyl]-N-methylamin (Unknown-192)	0,9 %	2,9 %

4.1.5 Untersuchte Proben

Der Einfluss unterschiedlicher Synthesebedingungen auf das Spurenverunreinigungsprofil von MDMA wurde für die reduktive Aminierung mittels Platinoxid/Wasserstoff untersucht. Zu diesem Zweck wurden die MDMA-Proben im Rahmen eines gemeinschaftlichen Projekts

des Bundeskriminalamts Wiesbaden und der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter kontrollierten Bedingungen synthetisiert [36]. Die MDMA-Hydrochlorid-Proben wurden mittels reduktiver Aminierung mit Platin-IV-Oxid/H₂ hergestellt. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Synthese wurde MDMA-Hydrochlorid dreimal unter denselben Bedingungen (3,5 bar, 2 h, 50 °C, PMK Charge 1) synthetisiert. Diese Proben werden im Folgenden als Referenzproben bezeichnet. Die Reaktionszeit wurde dann von 2 Stunden auf 4 Stunden und 8 Stunden (Proben t2 und t3), die Reaktionstemperatur von 50 °C auf 65 °C und 80 °C (Proben T2 und T3) erhöht und der Druck von 3,5 bar auf 2 bar und 5 bar geändert (Proben p2 und p3). Auch die Charge des verwendeten Edukts (PMK) wurde geändert (PMK Charge 2 und 3). Es wurde jeweils nur ein Parameter variiert, die anderen Parameter entsprechen denen der Referenzprobe.

Für weitere Untersuchungen wurde MDMA-Hydrochlorid mittels reduktiver Aminierung mit Aluminiumamalgam und mittels reduktiver Aminierung mit Natriumborhydrid hergestellt. Die Synthese mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel wurde zweimal bei – 18 °C und einmal bei 0 °C durchgeführt. Diese Proben wurden im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert. Die Synthesen sind im folgenden Unterkapitel 4.1.6 beschrieben. Eine Zusammenstellung der untersuchten Proben befindet sich in Tabelle 4.3

Die Proben für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Fällungsbedingungen auf das Spurenverunreinigungsprofil von MDMA-Salzen wurden beim Bundeskriminalamt Wiesbaden hergestellt. Diese Proben sind in Abschnitt 4.2.3 näher beschrieben.

Tabelle 4.3: untersuchte MDMA-Proben

Probenname	Reduktionsmittel	Druck [bar]	Zeit [h]	Temperatur [°C]	PMK Charge
Referenz 1 /Ref	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	50	PMK-Charge 1
Referenz 2/Ref2	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	50	PMK-Charge 1
Referenz 3/Ref3	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	50	PMK-Charge 1
t2/4h	PtO ₂ /H ₂	3,5	4	50	PMK-Charge 1
t3/8h	PtO ₂ /H ₂	3,5	8	50	PMK-Charge 1
T2/65 °C	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	65	PMK-Charge 1
T3/80 °C	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	80	PMK-Charge 1
p2	PtO ₂ /H ₂	2	2	50	PMK-Charge 1
p3	PtO ₂ /H ₂	5	2	50	PMK-Charge 1
PMK-Charge 2/b2/batch2	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	50	PMK-Charge 2
PMK-Charge 3/b3/batch3	PtO ₂ /H ₂	3,5	2	50	PMK-Charge 3
Al/Hg	Al/HgCl ₂			0	PMK-Charge 1
NaBH ₄ 0 °C /KM0/NaBH ₄ *	NaBH ₄			-18	PMK-Charge 1
NaBH ₄ -18 °C/ KM1/NaBH ₄ **	NaBH ₄			0	PMK-Charge 1
NaBH ₄ -18 °C/ KM2/NaBH ₄ **	NaBH ₄			-18	PMK-Charge 1

4.1.6 Synthese von MDMA

Um den Einfluss unterschiedlicher Synthesebedingungen wie Druck, Temperatur und Reaktionszeit auf die Spurenverunreinigungsprofile der MDMA-Hydrochloride besser einordnen zu können, wurden die Veränderungen dieser Spurenverunreinigungsprofile mit den Veränderungen des chemischen Profils der Verunreinigungen aufgrund anderer Synthesewege (reduktive Aminierung mit Natriumborhydrid und reduktive Aminierung mit Aluminiumamalgam) verglichen. Die entsprechenden Proben wurden dafür im Rahmen dieser Arbeit über reduktive Aminierung mit Natriumborhydrid und über reduktive Aminierung mit Aluminiumamalgam synthetisiert. Als Edukt wurde jeweils PMK aus Charge 1 verwendet. Es handelt sich hierbei um das gleiche PMK, welches auch für die Synthese der Referenzproben durch reduktive Aminierung mittels Platinoxid/Wasserstoff verwendet wurde. Es wurden drei MDMA-HCl-Proben mittels reduktiver Aminierung mit Natriumborhydrid (NaBH₄) als Reduktionsmittel (kalte Methode) synthetisiert und eine MDMA-Probe mittels reduktiver

Aminierung mit Aluminiumamalgam als Reduktionsmittel. Im Folgenden sind die Synthesen beschrieben.

4.1.6.1 Reduktion von PMK mittels Natriumborhydrid (kalte Methode)

Bei der kalten Methode wurden 15,1 g des Eduktes PMK (85 mmol) zu 50 ml Methanol hinzugefügt und auf 0 °C abgekühlt. 20 ml Methylamin (40 % in Wasser) wurden hinzugefügt und die Lösung auf -18 °C abgekühlt. 1300 mg NaBH₄ wurden in vier Schritten langsam hinzugefügt und die Lösung insgesamt für 24 Stunden gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel (Methanol) mittels Destillation entfernt und der Rückstand unter Vakuum destilliert. Zu der resultierenden farblosen MDMA-Base wurden 100 mL Aceton hinzugefügt und anschließend mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert, um eine Fällung des MDMA-Hydrochlorids zu erreichen. Um eine vollständige Abscheidung zu erzielen, wurde die Lösung für eine Nacht in den Kühlschrank gestellt. Die resultierenden Kristalle wurden abgefiltert und getrocknet. Die beschriebene Synthese wurde zweimal bei -18 °C und einmal bei 0 °C durchgeführt und ergab MDMA-Basen (12,2 g (74 %)/10,2 g (62 %)/12,7 (78 %)) und daraus nach Fällung MDMA-HCl (10,8 g (55 %)/7,3 g (38 %)/11,8 g (61 %)).

Die Struktur der Produkte wurde mittels NMR-Spektroskopie und HPLC bestätigt.

4.1.6.2 Reduktion von PMK mittels Aluminiumamalgam

Für die Synthese der MDMA-Probe mittels reduktiver Aminierung mit Aluminiumamalgam wurden 10 g Aluminium und 250 mg HgCl₂ für 15 Minuten in Wasser gegeben. Das resultierende Aluminiumamalgam wurde mit Wasser gewaschen und 19 ml Methylamin (40 % in Wasser), 36,25 g NaOH (25 %), 13,25 g (75 mmol) Edukt (PMK) und 130 ml Isopropanol hinzugefügt. Die Lösung wurde gerührt und bei 35-45 °C für zwei Stunden gehalten. Dann wurde die Mischung für weitere 12 Stunden stehen gelassen, das gebildete Al₂O₃ abgefiltert und das Lösungsmittel (Isopropanol) mittels Destillation entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Ether extrahiert, der anschließend mittels Destillation entfernt wurde. Die MDMA-Base wurde unter Vakuum destilliert, es wurde wiederum 100 ml Aceton zugegeben und zur Fällung des MDMA-Hydrochlorids wie oben mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert. Die Synthese ergab 10,4 g (73 %) MDMA-Base und daraus 9,6 g (56 %) MDMA-HCl.

Die Struktur des Produktes wurde mittels NMR-Spektroskopie bestätigt.

4.2 Ergebnisse und Diskussion

4.2.1 *Änderung des chemischen Profils der resultierenden MDMA-Salze bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel bei der reduktiven Aminierung*

Für den Materialvergleich ist unter anderem eine Einteilung der Proben nach verwendeter Syntheseroute forensisch relevant. Beim chemischen Impurityprofiling von MDMA lassen sich aufgrund routenspezifischer Verunreinigungen Rückschlüsse auf die bei der illegalen Synthese verwendete Syntheseroute ziehen. Eine Einteilung nach den drei klassischen, in Abschnitt 3.1.1.2 (Theoretische Grundlagen) aufgeführten Syntheserouten ist möglich [47]. Die Spurenverunreinigung N-Formyl-MDMA ist zum Beispiel spezifisch für die Leuckartreaktion und Bromverbindungen sind typisch für die Brompropanroute [47].

Die reduktive Aminierung ist die am häufigsten für die illegale Synthese von MDMA angewendete Syntheseroute. Durch Identifizierung anorganischer Bestandteile lassen sich Hinweise auf das verwendete Reduktionsmittel finden. Zum Beispiel lassen Rückstände von Platin in der Probe die Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff als Reduktionsmittel vermuten. Spezifische organische Spurenverunreinigungen für die verwendeten Reduktionsmittel gibt es laut Literatur nicht [23]. Die quantitative Zusammensetzung der Spurenverunreinigungen ändert sich jedoch bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel. Im Folgenden wird kurz auf die Entstehung ausgewählter Verunreinigungen während der reduktiven Aminierung eingegangen, und anschließend sind die Änderungen der organischen Spurenverunreinigungsprofile bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel dargestellt.

4.2.1.1 *Entstehung der für die reduktive Aminierung typischen Verunreinigungen während der Synthese von MDMA-Hydrochlorid*

In der folgenden Abbildung 4.5 ist die Entstehung einiger typischer Targetkomponenten während der reduktiven Aminierung aufgeführt.

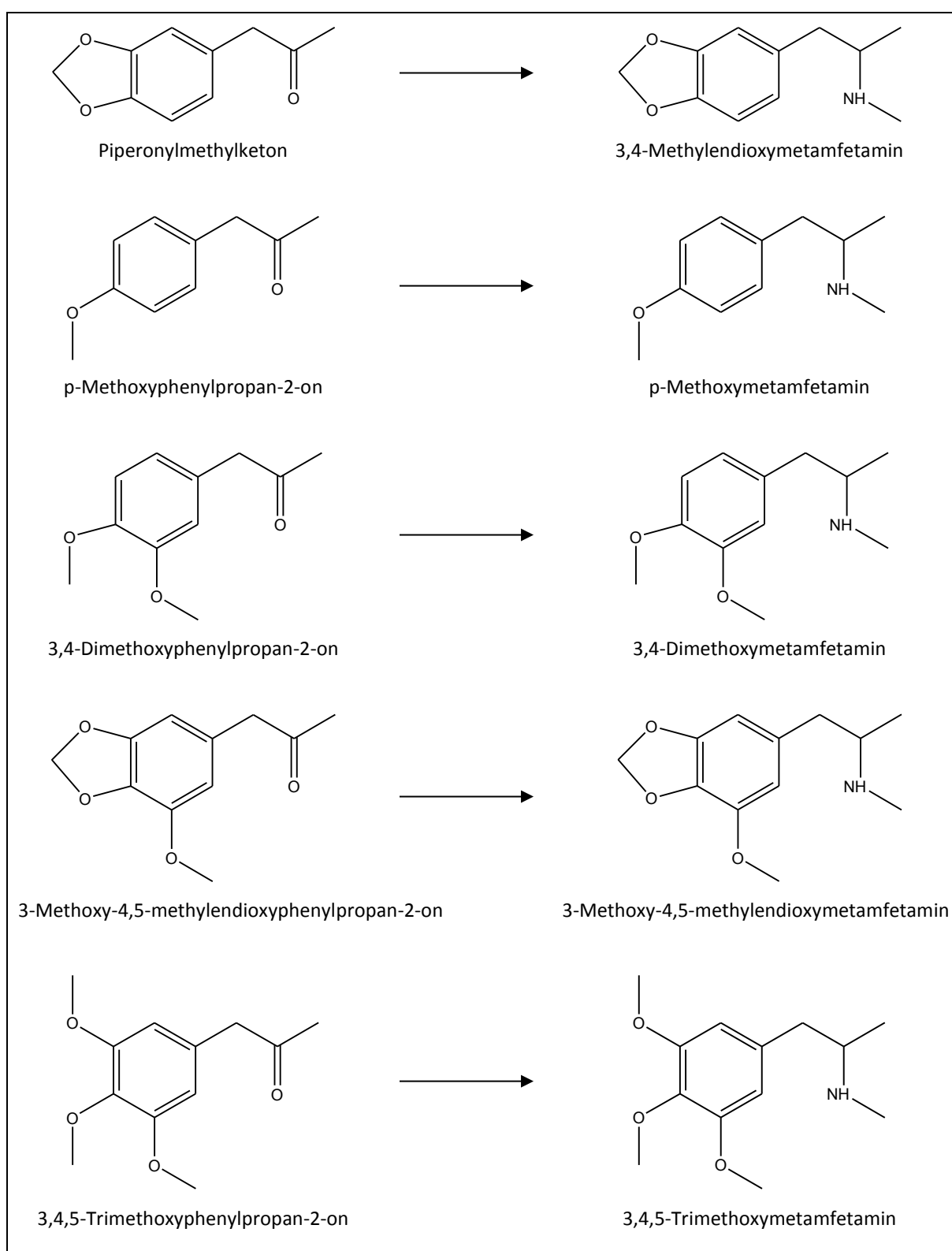


Abbildung 4.1: Entstehung ausgewählter Targetkomponenten

MDMA wird durch die reduktive Aminierung von Piperonylmethylketon (PMK) gebildet. Die in der Abbildung 4.5 unterhalb von PMK aufgeführten Verbindungen sind ebenfalls in PMK enthalten. Daher werden diese während der Synthese von MDMA aus PMK ebenfalls zu den in der Abbildung 4.5 unterhalb von MDMA aufgeführten Komponenten ungesetzt. PMK wird

durch Oxidation von Safrol gebildet. In aus Sassafrasöl gewonnenem Safrol sind unter anderem auch Estragol, Methyleugenol, Myristicin und Elemicin enthalten, die bei der Herstellung von PMK ebenfalls oxidiert werden. Aus Estragol entsteht p-Methoxyphenylpropan-2-on, aus Methyleugenol entsteht 3,4-Dimethoxyphenylpropan-2-on, aus Myristicin entsteht 3-Methoxy-4,5-methylenedioxyphenylpropan-2-on und aus Elemicin entsteht 3,4,5-Trimethoxyphenylpropan-2-on. [36].

Weitere Targetkomponenten sind zum Beispiel 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol, N-Formyl-MDMA und N-Acetyl-MDMA. Erstgenanntes entsteht durch Reduktion aus PMK und die beiden anderen aus dem gebildeten MDMA durch Formylierung beziehungsweise Acetylierung.

4.2.1.2 Änderung des chemischen Profils der resultierenden MDMA-Salze bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel bei der reduktiven Aminierung

Zur Untersuchung des Einflusses der Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel bei der reduktiven Aminierung von PMK zu MDMA auf das organische Spurenverunreinigungsprofil wurden die in Abschnitt 4.1.5 beschriebenen Proben mit dem in Abschnitt 4.1.2 beschriebenen harmonisierten GC-MS-Verfahren analysiert. Die auf die Peakflächen aller Targetkomponenten normierten Peakflächen sind in Abbildung 4.2 für alle Targetkomponenten dargestellt. Es wurde hier keine Wurzel aus den normierten Daten gezogen, da an dieser Stelle keine weitere statistische Auswertung erfolgte und somit keine Reduzierung des Einflusses großer Peaks notwendig ist. Es wird jeweils eine Probe synthetisiert unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff, eine Probe synthetisiert unter Verwendung von Aluminiumamalgam und eine Probe synthetisiert unter Verwendung von Natriumborhydrid abgebildet.

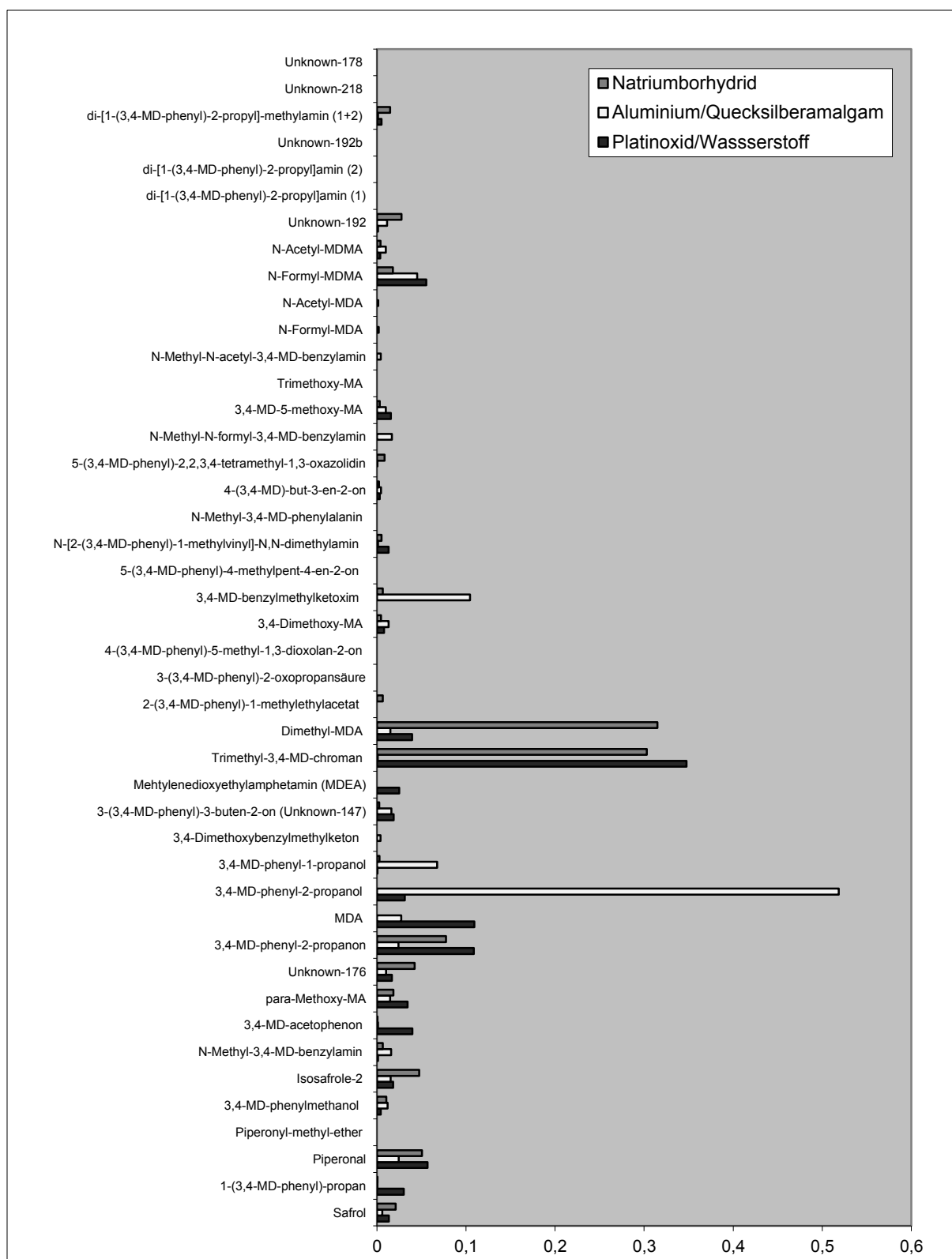


Abbildung 4.2: Einfluss der Reduktionsmittel auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl

Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen

Messbedingungen: Probenaufgabe: 2 µl splitlos bei 250 °C; Temperaturprogramm: 90 °C bis 300 °C; Erhöhung um 8 °C pro Minute; DB-1MS-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,33 µm) + unbelegte Vorsäule (2m x 250 µm); Trägergas: Helium bei einer Geschwindigkeit von 31 cm/s; Transferlinientemperatur: 310 °C; Ionenquellentemperatur: 230 °C; Massenbereich: 35-400 m/z

Die meisten betrachteten Targetkomponenten kommen unabhängig vom verwendeten Reduktionsmittel entweder gar nicht vor oder sie kommen vor, jedoch in unterschiedlichen Konzentrationen. Es gibt keine für ein bestimmtes Reduktionsmittel spezifischen Verunreinigungen. Eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel ist jedoch möglich, das heißt die Proben sind unterscheidbar. Aufgrund der Analyse des Spurenverunreinigungsprofils einer einzelnen Probe lässt sich jedoch nicht sagen, welches Reduktionsmittel verwendet wurde. Um eine Klassifizierung der Proben durchführen zu können, wurden mit den, wie in Abschnitt 4.1.3 beschrieben, vorbehandelten Daten Pearson-Korrelationskoeffizienten berechnet. Diese sind immer auf eine der unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff hergestellten Proben (Referenz 1-3) bezogen und in Tabelle 4.4 dargestellt.

Tabelle 4.4: Korrelationskoeffizienten bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel

Reduktionsmittel	Pearson-Korrelationskoeffizient		
	Referenz 1	Referenz 2	Referenz 3
Al/Hg	0,4905	0,4593	0,5249
NaBH ₄	0,6620	0,5977	0,6626
NaBH ₄	0,6413	0,5977	0,6626
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 1)	1,0000	0,9400	0,9752
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 2)	0,9400	1,0000	0,9520
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 3)	0,9752	0,9520	1,0000

Die Pearson-Korrelationskoeffizienten liegen für die Probe, die unter Verwendung von Aluminiumamalgam als Reduktionsmittel hergestellt wurde, zwischen 0,46 und 0,53. Für die Proben, die unter Verwendung von Natriumborhydrid als Reduktionsmittel hergestellt wurden, liegen sie im Bereich von 0,64 bis 0,66 und für die Proben, die unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff als Reduktionsmittel hergestellt wurden, liegen sie im Bereich von 0,94 bis 1. Die Abweichung der Koeffizienten untereinander ist bei Verwendung des gleichen Reduktionsmittels geringer als bei Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel.

Um dies zu verifizieren, wurden zusätzlich Pearson-Korrelationskoeffizienten für jedes Probenpaar innerhalb des beschriebenen Probenkomplexes berechnet. Für die Proben, die unter Verwendung von Natriumborhydrid als Reduktionsmittel hergestellt wurden, liegen die Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen 0,91 und 1 und für die Proben, die unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff als Reduktionsmittel hergestellt wurden, liegen sie

zwischen 0,94 und 1. Für Probenkombinationen, bei denen beide Proben nach unterschiedlicher Syntheseroute (unterschiedliches Reduktionsmittel) hergestellt wurden, liegen die Werte zwischen 0,38 und 0,66. Die Pearson-Korrelationskoeffizienten liegen für die Proben, die unter Verwendung des gleichen Reduktionsmittels hergestellt wurden, wesentlich näher an 1 (das heißt sie sind sich ähnlicher) als die Koeffizienten für die Proben, die unter Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel hergestellt wurden. Eine Klassifizierung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel ist möglich.

4.2.2 Reduktive Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff-Änderung des chemischen Profils von MDMA bei unterschiedlichen Synthesebedingungen

Im Folgenden wird nun auf die Veränderung des chemischen Profils der Verunreinigungen während der illegalen Synthese von MDMA mittels reduktiver Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff eingegangen, da dies die am häufigsten verwendete Syntheseroute für die illegale Produktion von MDMA-Hydrochlorid ist. Der Einfluss geänderter Synthesebedingungen auf die Gehalte an organischen Spurenverunreinigungen (Targetkomponenten) wird hierbei untersucht. Es wird der Einfluss der geänderten Reaktionszeit (Abbildung 4.3), der geänderten Reaktionstemperatur (Abbildung 4.4), der Änderung der verwendeten PMK Charge (Abbildung 4.5) sowie der Einfluss des geänderten Drucks (Abbildung 4.6) diskutiert. Zu diesem Zweck wurden die in Abschnitt 4.1.5 beschriebenen Proben mit der in Abschnitt 4.1.2 beschriebenen GC-MS-Methode analysiert. Die auf die Summe aller Target-Peakflächen normierten Peakflächen der Targetkomponenten wurden zur Erstellung der folgenden Balkendiagramme verwendet.

4.2.2.1 Einfluss der Reaktionszeit auf die MDMA-Hydrochloride

Die Änderung der Reaktionszeit hat nur leichte Auswirkungen auf die Gehalte an Targetkomponenten im hergestellten MDMA-HCl. Es treten jedoch trotzdem einige Unterschiede auf. 3,4-(Methylendioxy)benzylmethylketoxim ist nur bei höheren Reaktionszeiten nachweisbar (4 Std. und 8 Std.) und einige Targets sind nur bei niedrigeren Reaktionszeiten vorhanden. N-(3,4-Methylendioxyphenylmethyl)-N-[2-(3,4-methylen-dioxyphenyl)-1-methylethyl]-N-methylamin (Unknown 192) und 3,4-Methylendioxyphenyl-1-propanol treten zum Beispiel nur bei einer Reaktionszeit von zwei Stunden auf. Sie sind vermutlich bei höheren Reaktionszeiten schon weiter umgesetzt. N-Methyl-3,4-(methylendioxy)benzylamin und 3-(3,4-Methylendioxyphenyl)-3-buten-2-on (Unknown 147) treten nur bei einer Reaktionszeit von zwei und vier Stunden auf, da sie

aufgrund ihrer Reaktionskinetik erst bei längeren Reaktionszeiten in ausreichender Konzentration gebildet werden. In Abbildung 4.3 sind die Ergebnisse dargestellt.

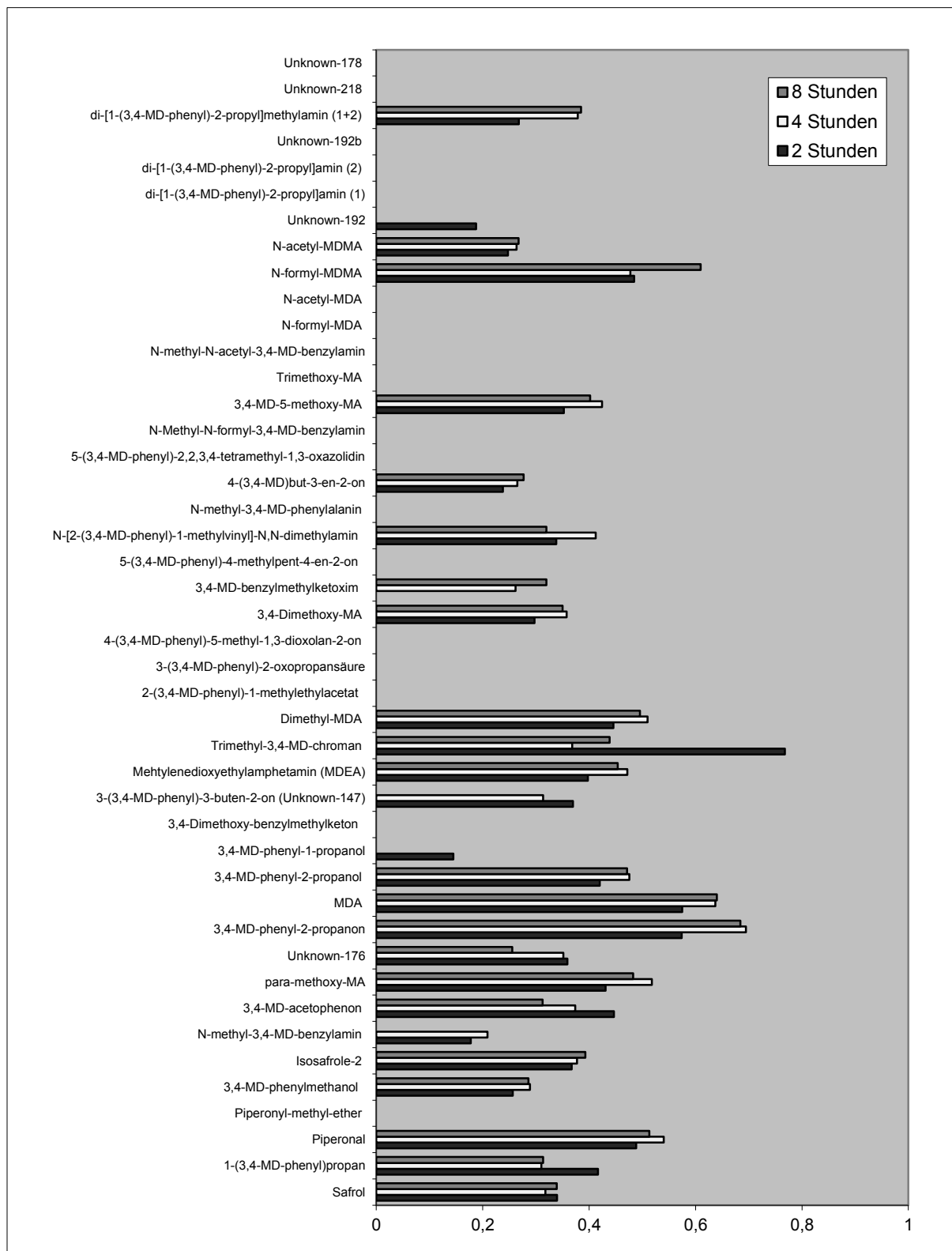


Abbildung 4.3: Einfluss der Reaktionszeit auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl
Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen
Messbedingungen wie in Abbildung 4.2

4.2.2.2 Einfluss der Reaktionstemperatur auf die MDMA-Hydrochloride

Der Einfluss der geänderten Reaktionstemperatur auf die Gehalte an Targetkomponenten im hergestellten MDMA-HCl ist in Abbildung 4.4 dargestellt. Einige Targets treten nur bei höheren Temperaturen auf, wie 3,4-(Methylenedioxy)benzylmethylketoxim und 5-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-4-methylpent-4-en-2-on. Diese bilden sich nur bei 65 °C und 80 °C. Mehrere Targets wie zum Beispiel 3,4-Methylenedioxyphenylmethanol, 3,4-Methylenedioxyamfetamin, 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol, 3,4-Methylenedioxyphenyl-1-propanol und 3,4-Dimethoxymetamfetamin sind nur bei niedrigeren Temperaturen vorhanden. Dies beruht vermutlich auf der Tatsache, dass diese Verbindungen bei höheren Temperaturen instabil sind. Ein Grund ist, dass bei höheren Temperaturen vermehrt Produkte aus Kondensationsreaktionen auftreten. Daher verschwinden unter diesen Reaktionsbedingungen die Substanzen mit niedrigerem Molekulargewicht (z.B. 3,4-Methylenedioxyphenylmethanol, 3,4-Methylenedioxyamfetamin, 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol und 3,4-Methylenedioxyphenyl-1-propanol) während Substanzen mit einem höheren Molekulargewicht (z.B. 5-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-4-methylpent-4-en-2-on) auftreten.

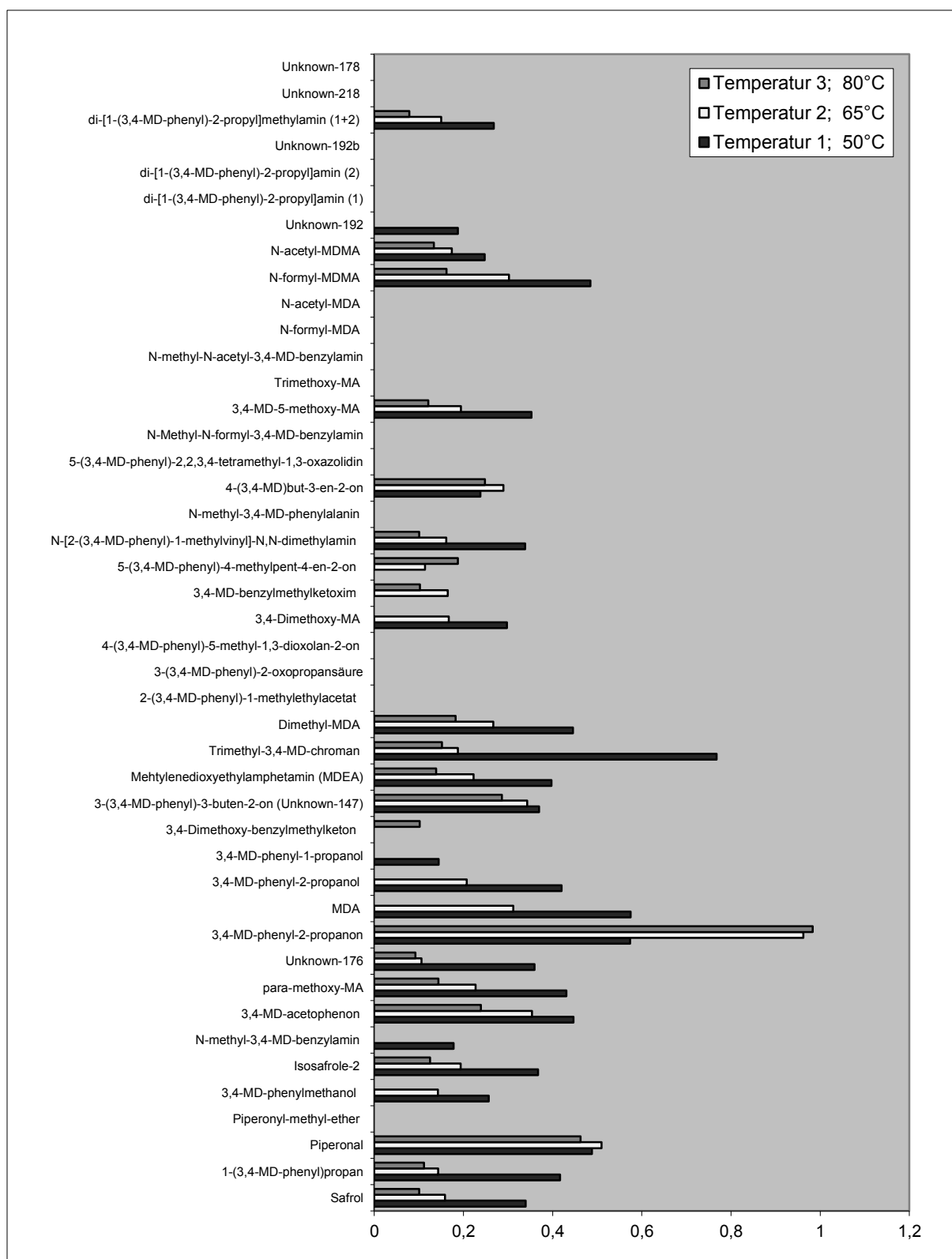


Abbildung 4.4: Einfluss der Reaktionstemperatur auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl
 Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen
 Messbedingungen wie in Abbildung 4.2

Betrachtet man das Balkendiagramm in Abbildung 4.4, so scheint die Konzentration der Targetkomponenten mit zunehmender Synthesetemperatur abzunehmen, obwohl tatsächlich das Gegenteil der Fall ist. Dieser Eindruck entsteht durch die Normierung der Daten. Die Normierung der absoluten Peakflächen auf die Summe der Peakflächen aller Targetkomponenten (notwendiges Standardvorgehen in der harmonisierten Profilingroutine) eliminiert Variationen innerhalb der Proben, die zum Beispiel durch Probenvorbereitung zu Stande kommen. Für Proben, die bei 65 °C oder 80 °C synthetisiert wurden, nimmt die Konzentration jeder Targetkomponente und somit die Gesamtkonzentration aller Targetkomponenten im Vergleich zu den Proben, die bei 50 °C synthetisiert wurden, deutlich zu. So ist z.B. die Intensität von PMK 700-mal höher als in der Referenzprobe. Dies führt dazu, dass die Summe aller Peakflächen im Vergleich zur Referenz um bis zu 80-fach erhöht ist. Da auf diese Summe normiert wird, führt dies letztendlich zu einer scheinbaren Abnahme der Intensität einzelner Signale.

4.2.2.3 Einfluss der verwendeten PMK-Charge auf die MDMA-Hydrochloride

Abbildung 4.5 zeigt den Einfluss der Verwendung unterschiedlicher PMK-Chargen auf den Gehalt an Targetkomponenten im hergestellten MDMA-Hydrochlorid.

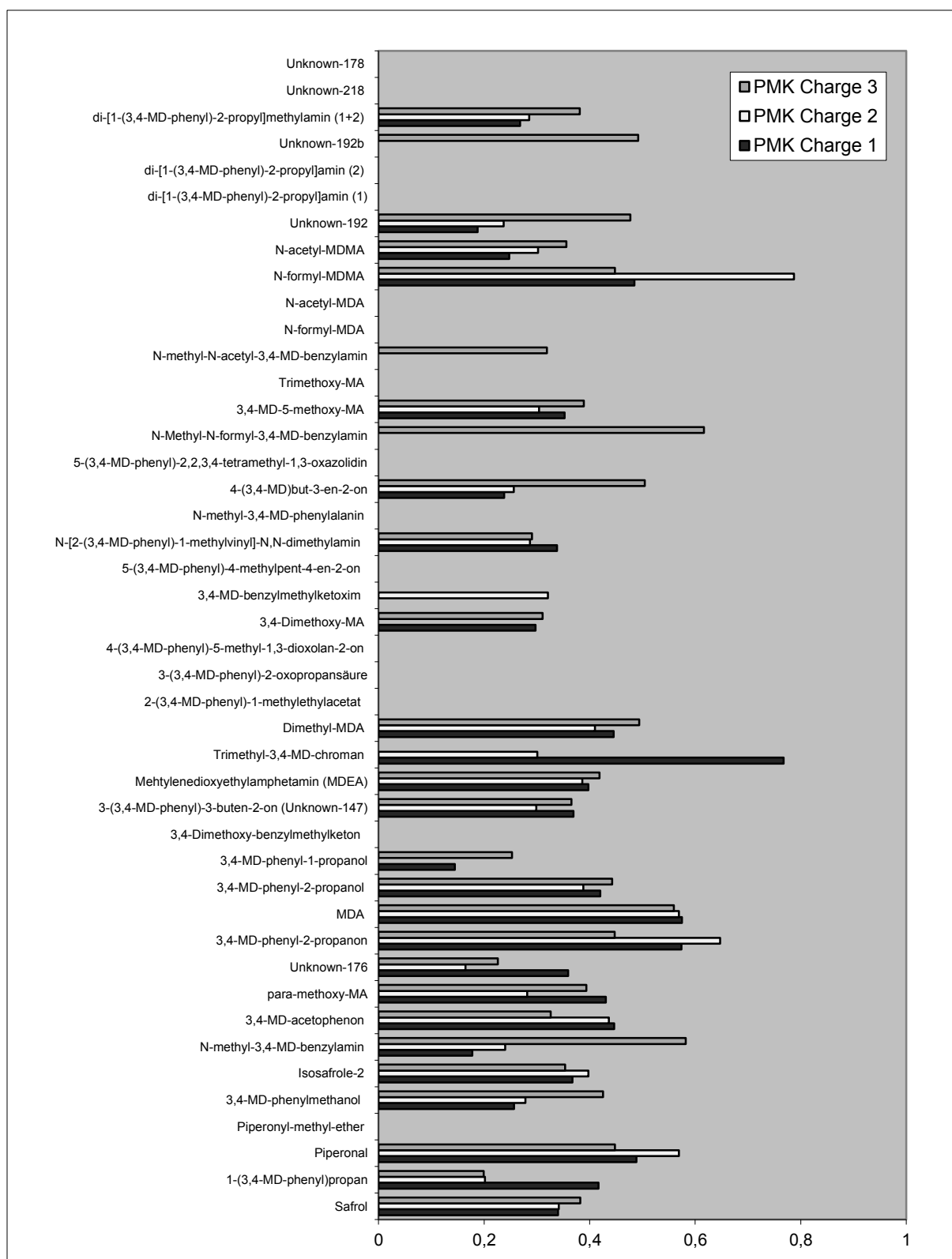


Abbildung 4.5: Einfluss der verwendeten PMK Charge auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl
 Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen
 Messbedingungen wie in Abbildung 4.2

Die aus der PMK Charge 3 erhaltene MDMA Hydrochlorid-Probe unterscheidet sich deutlich von den aus den Chargen-1 und 2 erhaltenen Proben. Nur die aus Charge 3 gewonnene Probe enthält N-Methyl-N-formyl-3,4-methylenedioxybenzylamin, N-Methyl-N-acetyl-3,4-methylenedioxybenzylamin und Unknown192b. N-Methyl-3,4-(methylenedioxy)-benzylamin und Unknown 192 sind in deutlich höherer Konzentration in Charge 3 enthalten und Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman ist in Charge 3 nicht vorhanden.

Auch die unter Verwendung von Charge-2 synthetisierte Probe unterscheidet sich in einigen Punkten von den anderen Proben. So ist 3,4-(Methylenedioxy)benzylmethylketoxim nur in dieser Probe vorhanden, während Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman fehlt.

Die Unterschiede in den Spurenverunreinigungsprofilen der verschiedenen MDMA-Hydrochlorid-Proben folgen aus den Verunreinigungen der unterschiedlichen PMK-Chargen, die für die Synthese verwendet wurden [36]. Die Analyse der PMK-Chargen war nicht Bestandteil dieser Arbeit.

4.2.2.4 Einfluss des Drucks während der Synthese auf die MDMA-Hydrochloride

Abbildung 4.6 zeigt den Einfluss des Drucks auf den Gehalt an Targetkomponenten im hergestellten MDMA-Hydrochlorid.

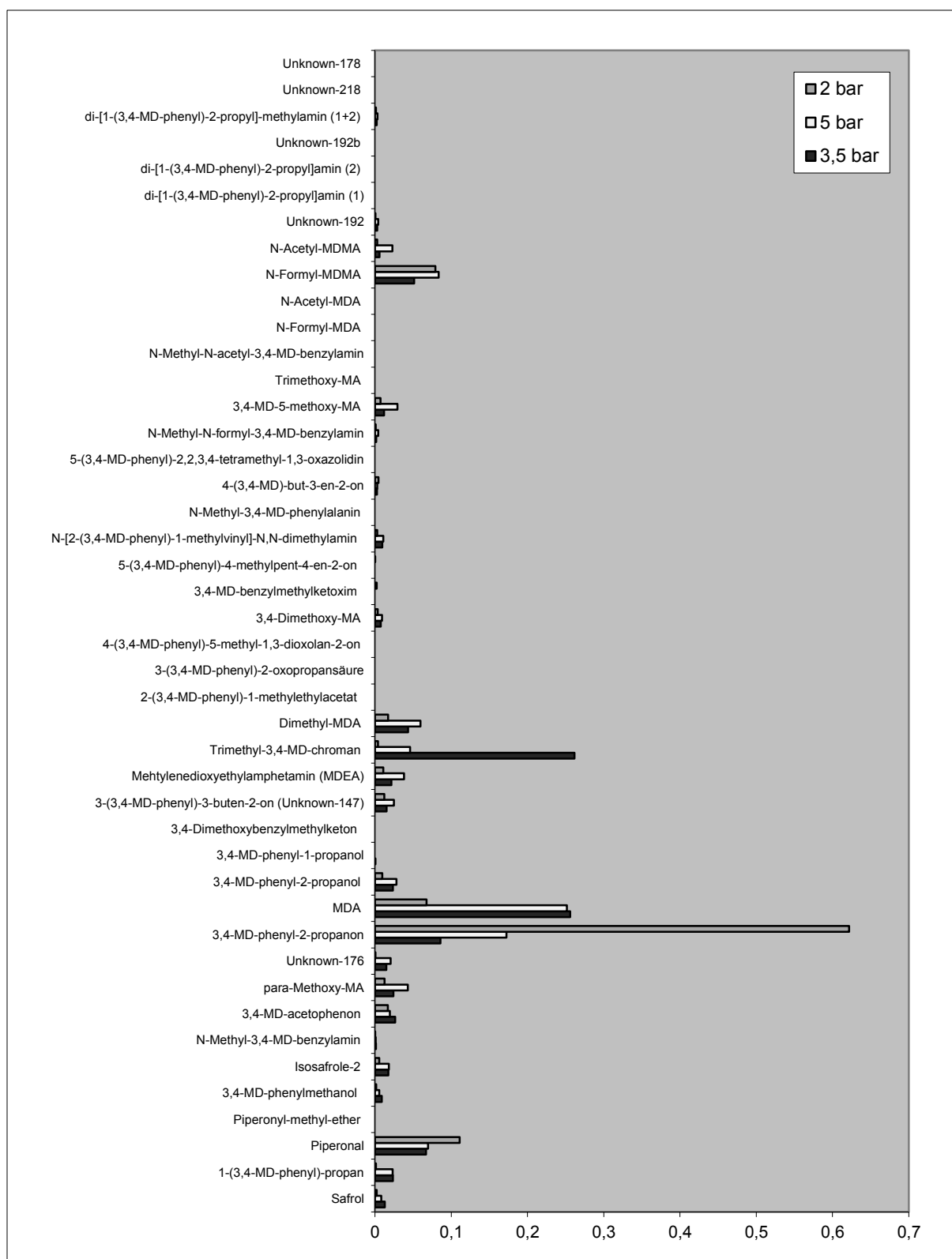


Abbildung 4.6: Einfluss des Drucks auf Vorkommen und Konzentration der Targetkomponenten in MDMA-HCl
 Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen
 Messbedingungen wie in Abbildung 4.2

Die Änderung des Drucks hat kaum Einfluss auf das organische Spurenverunreinigungsprofil der MDMA-Hydrochloridproben. Die Verunreinigungsprofile sind sowohl bei Verwendung

von 2 bar, als auch bei Verwendung von 3,5 bar oder 5 bar nahezu identisch. Es sind lediglich quantitative Unterschiede in den Targetkomponentgehalten feststellbar.

4.2.2.5 Beurteilung des Einflusses der Unterschiede auf die Probeneinteilung

Die Abbildungen 4.3 bis 4.6 zeigen die Unterschiede in den Profilen der organischen Verunreinigungen, wenn jeweils ein Parameter variiert wird. Um herauszufinden, ob die unterschiedlichen Proben voneinander unterschieden werden können, und um den gesamten Datensatz zu betrachten, wurden zunächst von den neun Proben die Pearson-Korrelationskoeffizienten unter Verwendung der wie in Kapitel 4.1.3 beschrieben vorbehandelten Daten in Bezug auf eine der drei Referenzproben berechnet. Diese wurden jeweils bei 50 °C, 3,5 bar, 2 Stunden und unter Verwendung von PMK Charge 1 synthetisiert (siehe Tabelle 4.3). Die Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 4.5 aufgeführt.

Tabelle 4.5: Pearson-Korrelationskoeffizienten für den gesamten Datensatz

Probe	Pearson-Korrelationskoeffizient		
	Referenz 1	Referenz 2	Referenz 3
Referenz 1	1,0000	0,9400	0,9752
Referenz 2	0,9400	1,0000	0,9520
Referenz 3	0,9752	0,9520	1,0000
Charge 2	0,8341	0,8335	0,8776
Charge 3	0,5590	0,5780	0,6042
65 °C	0,7374	0,8627	0,7757
80 °C	0,5319	0,6858	0,5696
2 bar	0,8945	0,9323	0,8850
5 bar	0,9843	0,9782	0,9730
4 Stunden	0,9084	0,9210	0,9195
8 Stunden	0,8716	0,8690	0,9056

Am größten ist die Abweichung bei Verwendung von PMK aus der Charge 3 (0.56 bis 0,6) und bei einer Temperaturerhöhung auf 80 °C (0.53 bis 0,69). Eine Temperaturerhöhung auf 65 °C (0.74 bis 0,86) weist ebenfalls eine deutliche Abweichung auf. Eine Änderung des Drucks, der Reaktionszeit sowie die Verwendung von PMK Charge 2 wirkt sich nicht wesentlich stärker aus als die Wiederholung der Synthese bei gleichbleibenden Reaktionsbedingungen.

Des Weiteren wurde mit den Daten eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Die Proben für die Druckänderung wurden hierbei der Übersichtlichkeit halber nicht mit einbezogen, da sie ähnliche Korrelationskoeffizienten aufweisen wie die Proben für die Änderung der Reaktionszeit. Die Ergebnisse der PCA sind in Abbildung 4.7 dargestellt.

Sie zeigen, dass sich die Probe, die unter Verwendung von PMK Charge 3 synthetisiert wurde sowie die Proben, die bei höheren Temperaturen (65 °C / T2 und 80 °C / T3) synthetisiert wurden, deutlich von den anderen Proben unterscheiden. Die berechneten Pearson-Korrelationskoeffizienten ergaben bereits das gleiche Resultat.

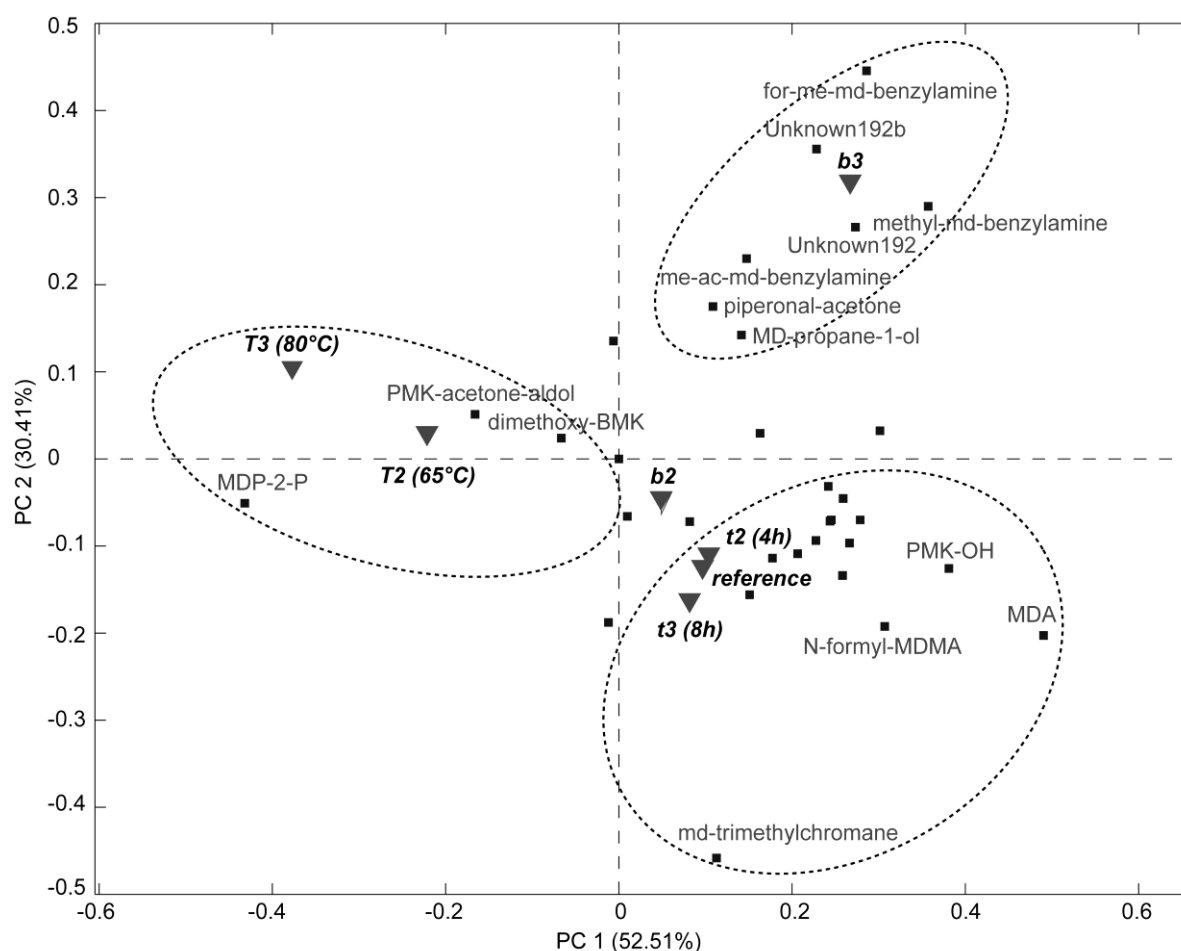


Abbildung 4.7: PCA für Proben synthetisiert bei unterschiedlichen Synthesebedingungen [53]
Die Dreiecke stehen für die Proben und die Punkte für die Targetkomponenten (Loadings)

Die entsprechenden Loadings sind ebenfalls in Abbildung 4.7 dargestellt und zeigen die Targetkomponenten, die hauptsächlich für die beobachteten Unterschiede verantwortlich sind. Die Temperaturvariation hat großen Einfluss auf PMK, 3,4-Dimethoxyphenylacetone und 5-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-4-methylpent-4-en-2-on. Die Veränderung der Charge von PMK hat den größten Einfluss auf N-Methyl-N-formyl-3,4-methylenedioxybenzylamin,

N-Methyl-N-acetyl-3,4-methylenedioxybenzylamin, Unknown192b, Unknown192 und N-Methyl-3,4-(methylenedioxy)benzylamin. Diese Ergebnisse sind konsistent mit den in den Kapiteln 4.2.2.1 bis 4.2.2.3 beschriebenen Beobachtungen. Die oben beschriebenen Unterschiede in den Verunreinigungsprofilen sind auch durch visuellen Vergleich der GC-Chromatogramme ersichtlich. Um dies zu verdeutlichen, zeigt Abbildung 4.8 die Totalionenchromatogramme der Referenzprobe, der Probe synthetisiert bei 80 °C und der beiden Proben synthetisiert unter Verwendung von PMK Charge 2 und PMK Charge 3.

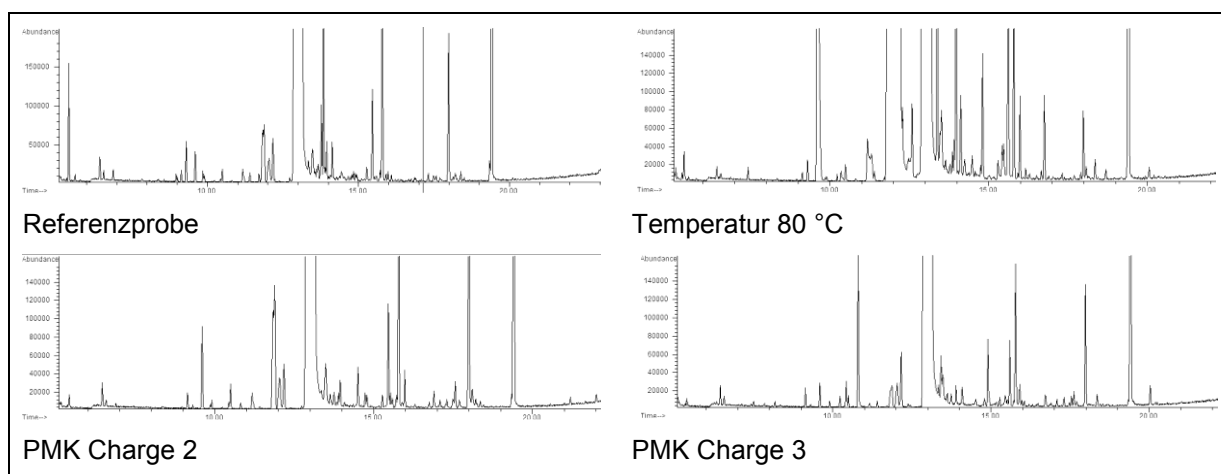


Abbildung 4.8: Chromatogramme für den visuellen Vergleich
Messbedingungen: Probenaufgabe: 2 µl splitlos bei 250 °C; Temperaturprogramm: 90 °C bis 300 °C; Erhöhung um 8 °C pro Minute; DB-1MS-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,33 µm) + unbelegte Vorsäule (2m x 250 µm); Trägergas: Helium bei einer Geschwindigkeit von 31 cm/s; Transferlinientemperatur: 310 °C; Ionenquellentemperatur: 230 °C; Massenbereich: 35-400 m/z

Um die Auswirkung der Unterschiede zwischen den unter unterschiedlichen Bedingungen synthetisierten MDMA-Hydrochloriden auf die Probeneinteilung beurteilen zu können, wird im Folgenden eine Clusteranalyse mit den unter unterschiedlichen Bedingungen synthetisierten MDMA-HCl-Proben, den Referenzproben 1-3, den vier MDMA-Hydrochloriden, die mit verschiedenen Reduktionsmitteln (Aluminiumamalgam und Natriumborhydrid (kalte Methode)) via reduktiver Aminierung synthetisiert wurden und einer MDMA-HCl-Probe, die dreimal unter den gleichen Bedingungen gemessen wurde, durchgeführt. Bei dieser MDMA-HCl-Probe handelt es sich um die gleiche Probe, mit der die Reproduzierbarkeitsmessungen in Abschnitt 4.1.4 durchgeführt wurden. Sie wird im Folgenden als Kontrollprobe bezeichnet. Die Clusteranalyse wurde unter Verwendung der Euklidischen Distanz als Distanzmaß durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abbildung 4.9 zu sehen.

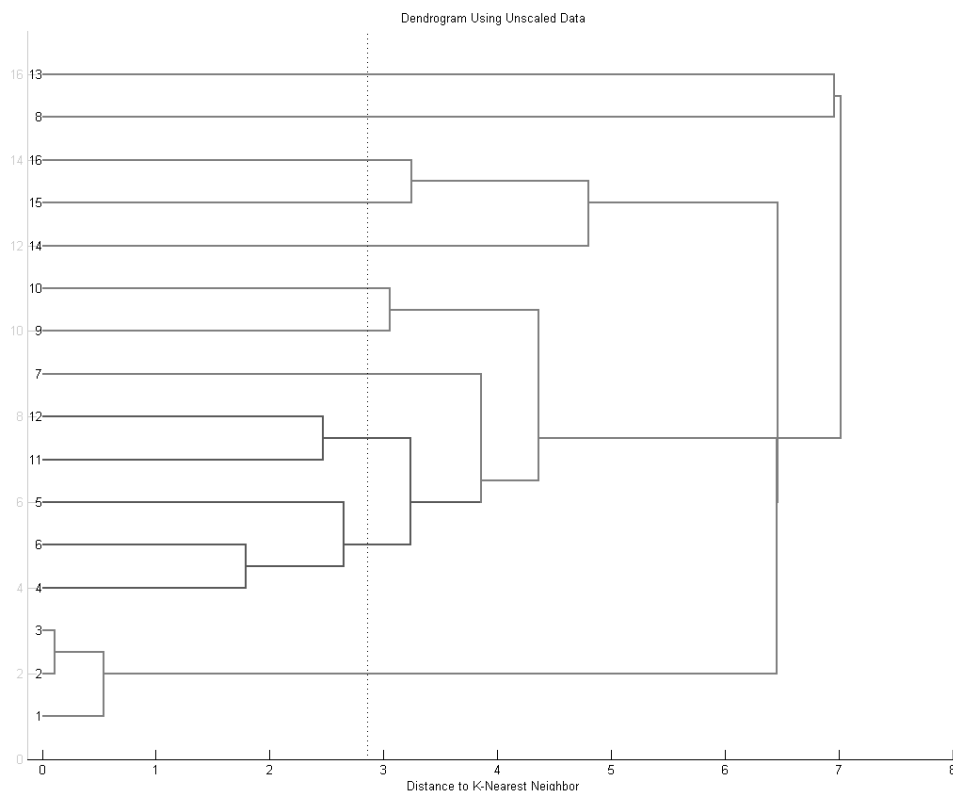


Abbildung 4.9: Dendrogramm für alle Proben [53]

Legende: 1: Kontrollprobe; 2: Kontrollprobe; 3: Kontrollprobe; 4: Referenzprobe 1; 5: Referenzprobe 2; 6: Referenzprobe 3; 7: PMK Charge 2; 8: PMK Charge 3; 9: Temp 2(65 °C); 10: Temp 3(80 °C); 11: Zeit 2(4h); 12: Zeit 3(8h) 13: MDMA Quecksilber; 14: MDMA kalte Methode; 15: MDMA kalte Methode 2; 16: MDMA kalte Methode 3

Abbildung 4.9 zeigt wie erwartet, dass die Messungen der Kontrollprobe (1-3) die niedrigsten Distanzen zueinander aufweisen (etwa 0,2 und 0,6). Sie sind klar abgegrenzt von den anderen Proben. Die drei Proben, die unter gleichen Bedingungen synthetisiert wurden (4, 5, 6), bilden ein Cluster und haben Distanzen von etwa 3 zueinander. Die MDMA-Hydrochlorid-Proben, die mit verschiedenen Reduktionsmitteln synthetisiert wurden (13-16), sind klar getrennt von den Proben, die mit reduktiver Aminierung mittels Platinoxid/Wasserstoff synthetisiert wurden (Distanz bis zu 7).

Die Änderung der Reaktionszeit hat keinen signifikanten Einfluss auf das resultierende organische Profil, die euklidische Distanz innerhalb der Proben 11 und 12 ist niedriger als innerhalb der drei Proben, die unter gleichen Bedingungen synthetisiert wurden (2.4 im Vergleich zu 2.6). Die Proben, bei denen unterschiedliche PMK Chargen verwendet wurden, zeigen signifikante Differenzen (Distanz bis zu 7), wobei besonders Charge 3 deutlich von Charge 1 und Charge 2 getrennt ist. Die Probe unter Verwendung von PMK Charge 3 ist von

der Abweichung ähnlich wie die Probe, bei der Aluminiumamalgam als Reduktionsmittel verwendet wurde, im Vergleich zu den anderen Reduktionsmitteln. Der Einfluss der Reaktionstemperatur auf das resultierende organische Profil des Endproduktes ist ebenfalls deutlich ersichtlich. Die Proben 9 und 10 haben eine Distanz von 4.4 zu den Proben 4, 5, 6, 11 und 12.

4.2.2.6 Vergleich zu zweidimensionaler Gaschromatographie

Dieselben Proben wurden ebenfalls mit zweidimensionaler Gaschromatographie am Helmholtzzentrum München von Marion Schäffer analysiert [42, 53]. Die Ergebnisse für eindimensionale und zweidimensionale GC werden im Rahmen dieser Arbeit gegenübergestellt.

Betrachtet man die normierten Peakflächen der Targetkomponenten, so wurden mit ein- und zweidimensionaler Gaschromatographie ähnliche Ergebnisse erzielt. Abbildung 4.10 zeigt das Ergebnis einer hierarchischen Cluster-Analyse für GC und GC×GC-Daten. Es wurden jeweils die normierten Peakflächen der Targetkomponenten verwendet. Es sind dieselben Proben dargestellt, wie im vorangegangenen Abschnitt 4.2.2.5, jeweils einmal mit GC und einmal mit GC×GC gemessen. Lediglich die Referenzproben 2 und 3 wurden nur mit GC analysiert. Die in der Abbildung verwendeten Abkürzungen sind in der Tabelle 4.3 aufgelistet. Die Kontrollprobe wurde als c4 bezeichnet.

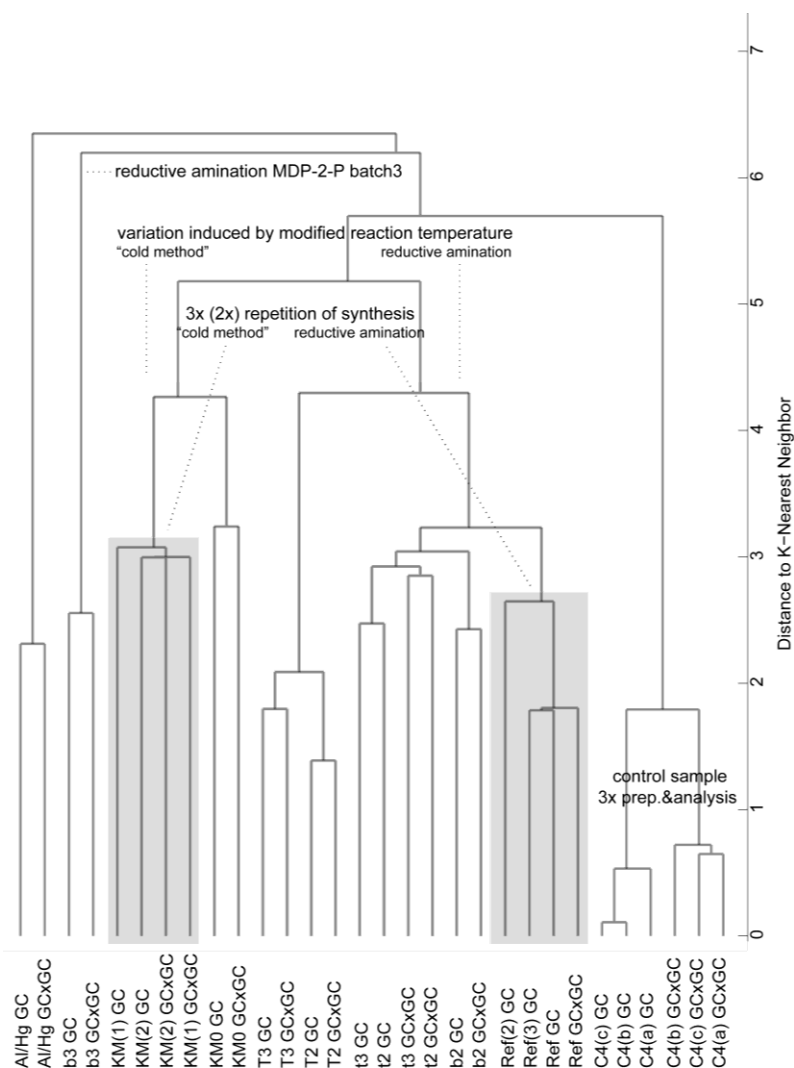


Abbildung 4.10: Hierarchische Clusteranalyse (euklidische Distanzen) für GC und GCxGC Daten [53]

Abbildung 4.10 zeigt, dass die geringsten Distanzen im Dendrogramm für die Kontrollproben (eine Probe, dreimal extrahiert und gemessen) erreicht werden, wobei jeweils die Ergebnisse für dieselbe analytische Methode niedrigere Differenzen aufweisen als der Vergleich zwischen den beiden Methoden GC und GCxGC. Die Variation zwischen den beiden Analysemethoden ist geringer als die Variation bei der Referenzprobe 1 bis 3 (wiederholte Synthese unter den gleichen Bedingungen). Dies liegt an der sehr guten Reproduzierbarkeit der verwendeten Analysemethoden. Das Cluster der Kontrollproben ist deutlich von den anderen Proben abgegrenzt. Abgesehen davon haben die eindimensionalen und zweidimensionalen Messungen der jeweils gleichen Probe die geringsten Distanzen zueinander, außer bei der Messung der MDMA-Proben die mit unterschiedlichen Reaktionszeiten synthetisiert wurden. Das bedeutet, dass in diesem Fall die Variationen im chemischen Profil, die durch die unterschiedlichen Messmethoden verursacht werden, größer sind als die Variationen, die durch eine Änderung der Reaktionszeit begründet sind. Die

organischen Profile der drei Referenzproben formen unter gleichen Bedingungen ein Cluster, Änderungen in der Reaktionszeit wie auch die Verwendung von PMK der Charge 2 zeigen nur kleine Effekte auf das Profil. Im Gegensatz dazu hat die Änderung der Reaktionstemperatur einen großen Einfluss auf das chemische Profil des Endprodukts. Das mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel synthetisierte MDMA-Hydrochlorid setzt sich deutlich von dem unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff hergestellten Produkt ab. Der Effekt der Temperaturänderungen ist jedoch für beide Synthesewege ähnlich. Die mit Aluminiumamalgam reduzierte Probe kann von den beiden anderen deutlich unterschieden werden. Die aus der PMK Charge 3 synthetisierte Probe variiert deutlich von den Proben, die auf demselben Weg (Reduktive Aminierung mit PtO_2/H_2) hergestellt wurden, aber unter Verwendung der anderen PMK Chargen. Der Einfluss der Edukt-Charge auf das Verunreinigungsprofil ist zu groß, um eine akkurate Klassifizierung der Proben hinsichtlich des verwendeten Reduktionsmittels zu treffen.

Ohne die Gesamtdauer einer Messung zu verlängern, kann zweidimensionale GC die Auftrennung der Targetkomponenten eines MDMA-Extrakts signifikant verbessern. Wie Abbildung 4.11 zeigt, können durch den zweidimensionalen Ansatz Co-Elutionen, welche in der eindimensionalen MDMA-Analyse regelmäßig auftreten, vermieden werden. Links ist der Peak der Spurenverunreinigung N-Formyl-methylen-dioxy-metamfetamin (N-Formyl-MDMA) zu sehen. Mit eindimensionaler GC wird hier, selbst bei der Wahl unterschiedlicher Massenspuren, nur ein Peak detektiert. Bei der zweidimensionalen Chromatographie kann man drei verschiedene Peaks, N-Formyl-methylen-dioxy-metamfetamin und zwei unbekannte Komponenten mit den Hauptfragmenten 97 und 162, separieren. N-Formyl-MDMA teilt die Masse 162 mit einer der unbekannten Komponenten, kann jedoch über die Masse 86 trotzdem eindeutig identifiziert werden.

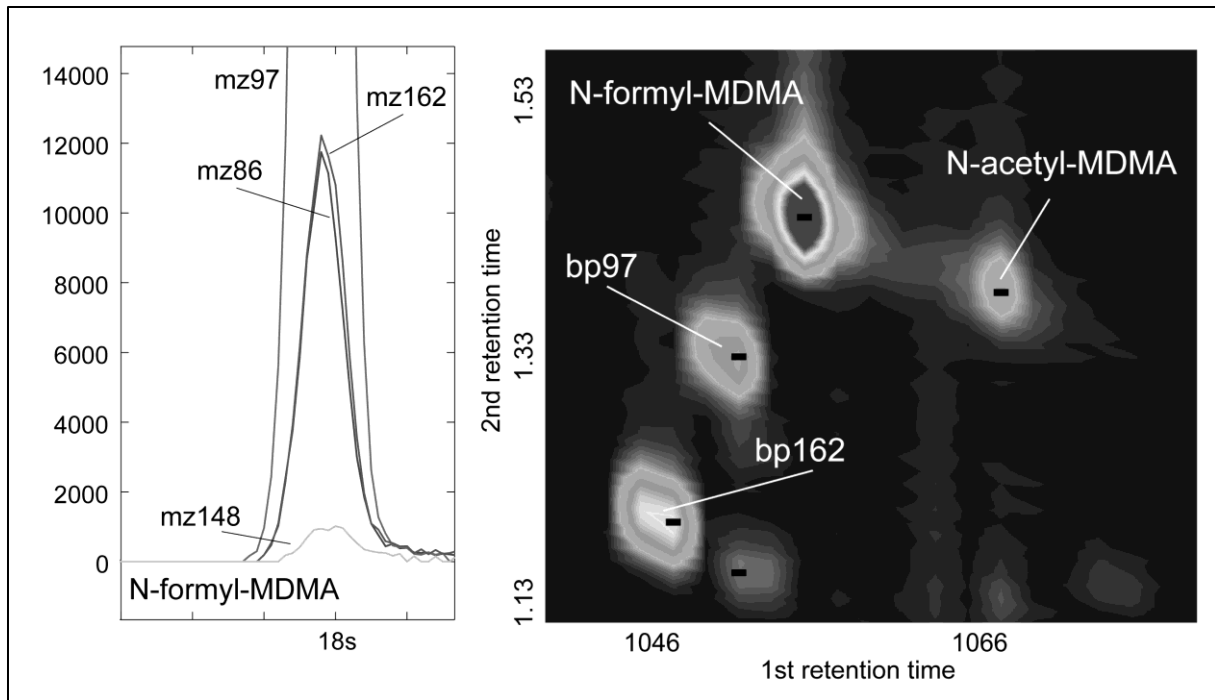


Abbildung 4.11: Verbesserte Trennung durch Verwendung von zweidimensionaler GC [53]

Generell wird das Überlappen der Peaks bei Verwendung von zweidimensionaler GC reduziert, was die Peakintegration vereinfacht sowie die Peakzuordnung und automatische Integration durch die Software verbessert. Dies verringert den Zeitaufwand für die manuelle Nachbearbeitung der Daten signifikant, was bei in der Routineanalytik eingesetzten Verfahren durchaus eine Rolle spielt. Allerdings handelt es sich bei der zweidimensionalen GC um kein Routineverfahren für den Materialvergleich von MDMA. Eindimensionale GC-MS ist das Mittel der Wahl für die Durchführung harmonisierter Profilingverfahren, da nahezu jedes forensische Labor mit solch einem Gerät ausgestattet ist.

4.2.2.7 Einfluss veränderter Synthesebedingungen auf die MDMA-Basen

Die Synthese von MDMA-Hydrochlorid erfolgt über die MDMA-Base. Diese wird vor der Kristallisation zum MDMA-Hydrochlorid zunächst destilliert. Daher standen neben den MDMA-Hydrochlorid-Proben, die unter unterschiedlichen Synthesebedingungen hergestellt wurden, auch die korrespondierenden Basen sowohl vor als auch nach der Destillation zur Verfügung und wurden im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls untersucht.

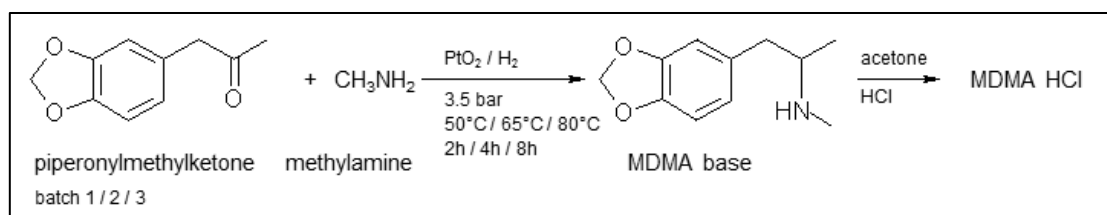


Abbildung 4.12: Reduktive Aminierung von Piperonylmethylketon (PMK) zu MDMA-HCl mittels PtO_2/H_2

Dennoch ist ein direkter Vergleich der MDMA-Base mit dem MDMA-Hydrochlorid über die Quantifizierung der Targetkomponenten nicht möglich, da die Extraktion zur Probenvorbereitung nicht für die MDMA-Basen geeignet ist. Im Vergleich zum Hydrochlorid ist die MDMA-Base in der Pufferlösung so gut wie nicht löslich. Dies führt zu einer Anreicherung derselben in der organischen Phase. Daher wird der Einfluss unterschiedlicher Synthesebedingungen auf die MDMA-Basen hier nur qualitativ diskutiert. Abbildung 4.13 zeigt GC-MS-Chromatogramme für MDMA-Basen, die bei 50°C bzw. 80°C synthetisiert wurden. Oben links sieht man die MDMA-Base vor der Destillation, unten links nach der Destillation. Auf der rechten Seite sind die Chromatogramme der entsprechenden MDMA-Hydrochloride abgebildet.

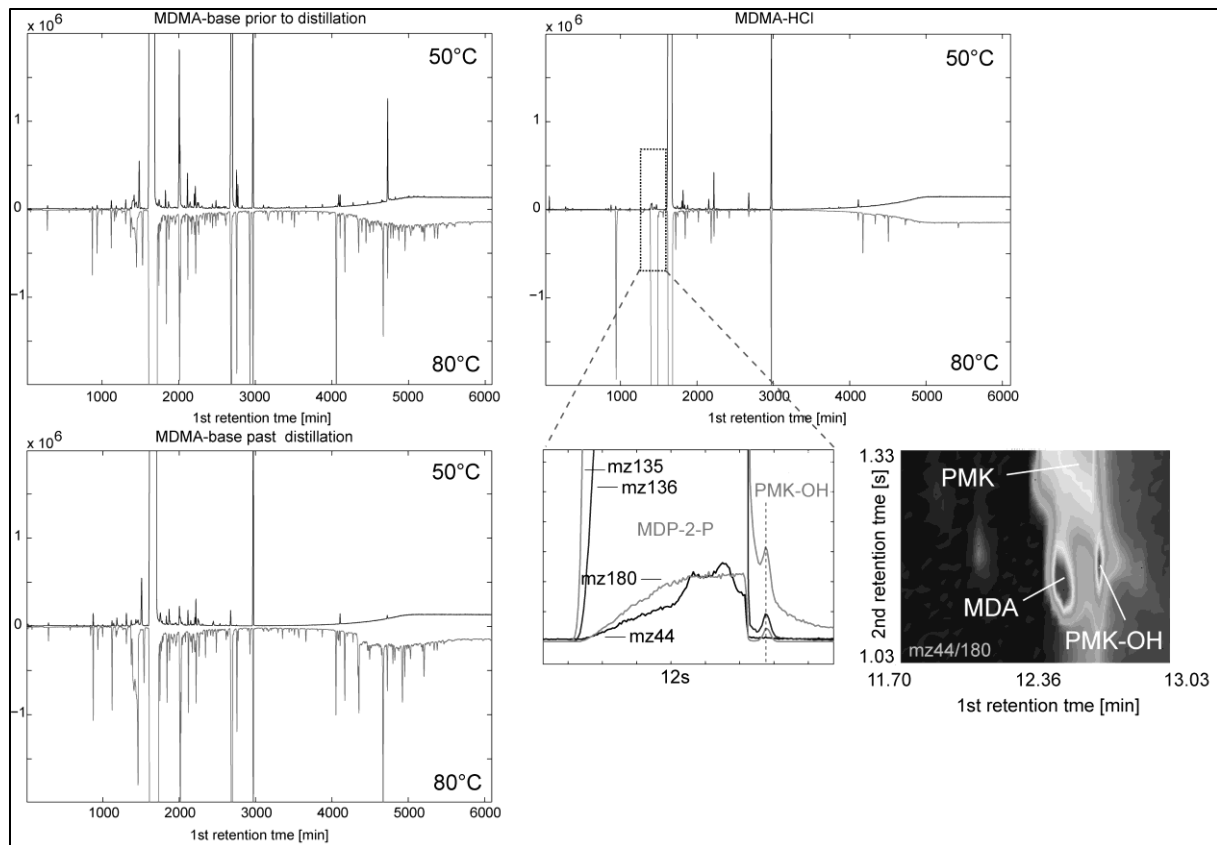


Abbildung 4.13: GC-Chromatogramme der MDMA-Basen synthetisiert bei unterschiedlichen Temperaturen [53]

Messbedingungen: Probenaufgabe: 2 µl splitlos bei 250 °C; Temperaturprogramm: 90 °C bis 300 °C; Erhöhung um 8 °C pro Minute; DB-1MS-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,33 µm) + unbelegte Vorsäule (2m x 250 µm); Trägergas: Helium bei einer Geschwindigkeit von 31 cm/s; Transferlinientemperatur: 310 °C; Ionenquellentemperatur: 230 °C; Massenbereich: 35-400 m/z

Generell führt die Destillation zu einer Abnahme der schwer verdampfbaren Produkte und zu einer deutlichen Reduzierung von N-Formyl-methylenedioxyamfetamin, N-Acetyl-methylenedioxyamfetamin, N-Methyl-N-formyl-3,4-methylenedioxybenzylamin und 3,4-(Methylenedioxy)benzylmethylketoxim.

In der rechten unteren Ecke der Abbildung 4.13 ist ein weiteres Beispiel für die Verbesserung der Trennung durch Verwendung von zweidimensionaler GC zu sehen. Eine große Menge an PMK, das sich bei höherer Temperatur während der Reaktion bildet, verhindert die Detektion des 3,4-Methylenedioxyamfetamins (MDA) in diesen Proben. Aufgrund des Fehlens einer spezifischen Masse kann auch auf keine andere Massenspur ausgewichen werden. 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol kann zwar durch die Masse 180 leicht identifiziert, aber durch die Überlagerung durch den großen PMK-Peak auch leicht übersehen werden. Auf der rechten Seite der Abbildung sieht man das GCxGC-Chromatogramm. Die zusätzliche Dimension lässt eine einfache Identifikation des MDA trotz des großen PMK-Peaks zu.

Bei der Untersuchung der MDMA-Basen wurde grundsätzlich beobachtet, dass die Signale für 3,4-Methylenedioxyphenylmethanol, 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol und 3,4-Methylenedioxyphenyl-1-propanol um bis zu 6 Sekunden verschoben wurden, während die Retentionszeiten der anderen Komponenten konstant blieben. Bei der originalen Retentionszeit für 4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol konnte nur ein schmaler Peak beobachtet werden. Dieser Effekt war bei den Proben, synthetisiert bei 65 °C und 80 °C, besonders ausgeprägt und konnte sowohl mit eindimensionaler als auch mit zweidimensionaler GC nachgewiesen werden. Eventuell werden Strukturisomere dieses Alkohols gebildet. Dies könnte eine Erklärung für die große Menge an Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman in der Referenzprobe sein. Diese Verunreinigung kann durch die Reaktion von 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanol mit Aceton entstehen, welches zusammen mit Salzsäure für die Fällung des MDMA-Salzes verwendet wird. Dies ist in Abbildung 4.14 dargestellt.

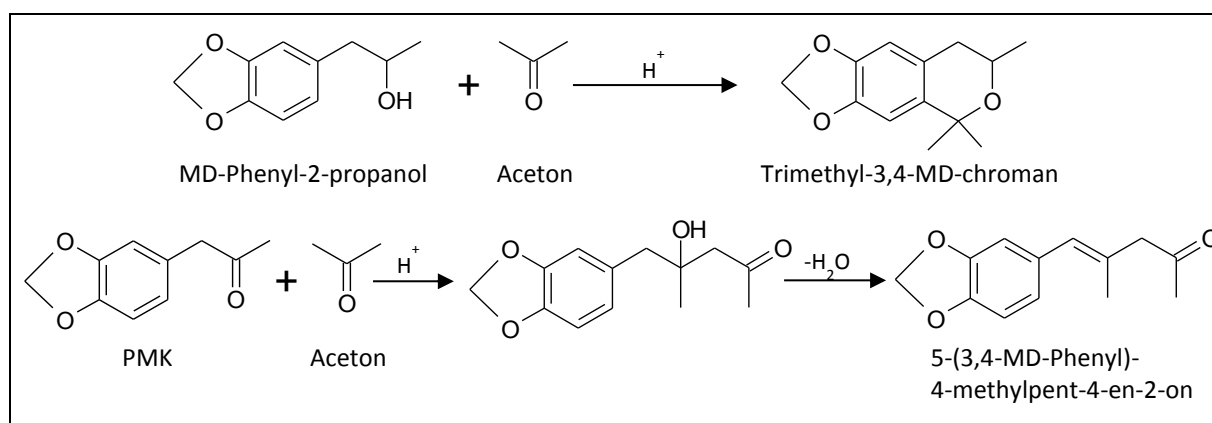


Abbildung 4.14: Bildung von Trimethyl-3,4-MD-chroman und 5-(3,4-MD-phenyl)-4-methylpent-4-en-2-on

Befindet sich die Seitenkette (2-Propanol) an Position 2 oder 5, wird die Ringbildung zu Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman verhindert. Für Proben aus PMK Charge 3 konnte keine Verschiebung der drei Komponenten in den Chromatogrammen der MDMA-Basen gefunden werden (wie es bei der Referenzprobe der Fall war). In den korrespondierenden Hydrochlorid-Proben konnte dennoch kein Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman nachgewiesen werden. Möglicherweise sind andere Mechanismen involviert. Keine der potentiellen Isomere, die in der MDMA-Base gefunden wurden, konnten in den Hydrochlorid-Proben detektiert werden.

Prinzipiell finden sich in der MDMA-Base mehr Targetkomponenten als in dem entsprechenden MDMA-Hydrochlorid. Dies ist mit der Aufreinigung der Probe durch den Kristallisationsprozess während der Fällung zum MDMA-Hydrochlorid zu erklären. Auf der

anderen Seite entstehen einige Targetkomponenten, wie das Trimethyl-3,4-methylenedioxychroman, erst durch die Erniedrigung des pH-Wertes bei der Kristallisation.

4.2.2.8 Forensische Relevanz

Um die forensische Relevanz der Unterschiede zwischen den unter unterschiedlichen Bedingungen synthetisierten MDMA-Hydrochloriden diskutieren zu können, ist in Abbildung 4.15 noch einmal das Ergebnis einer hierarchischen Clusteranalyse basierend auf euklidischen Distanzen, berechnet aus den GC-MS-Daten, dargestellt. Die Proben, die mittels reduktiver Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff bei unterschiedlichen Synthesebedingungen synthetisiert wurden, werden wiederum mit der Kontrollprobe, die dreimal extrahiert und gemessen wurde, den Referenzproben 1 bis 3 sowie den vier MDMA-Hydrochloriden, die mit verschiedenen Reduktionsmitteln (Aluminiummalgam und Natriumborhydrid (kalte Methode)) mittels reduktiver Aminierung synthetisiert wurden, verglichen. Die Probenbezeichnungen sind in Tabelle 4.3 aufgeführt. Die Kontrollprobe wurde wiederum als c4 bezeichnet.

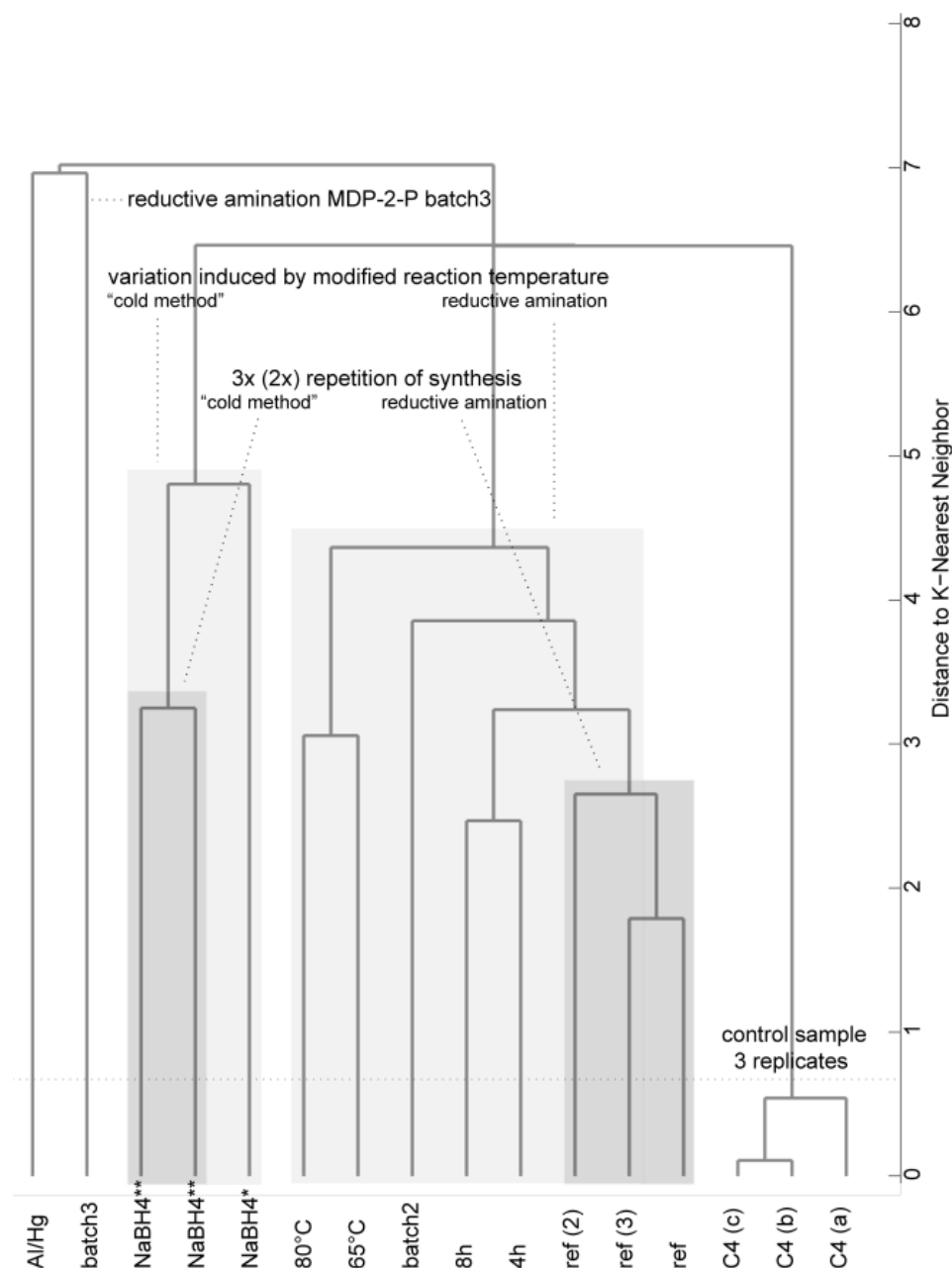


Abbildung 4.15: Ergebnis der Clusteranalyse für alle Proben (MDMA-HCl) [53]

Die niedrigsten Distanzen erhält man für die Kontrollproben, die deutlich von den anderen Proben separiert sind. Dies repräsentiert die Reproduzierbarkeit der Methode. Den nächsten Distanz-Level bilden die Referenzproben 1 bis 3 (wiederholte Synthese unter den gleichen Bedingungen). Die Modifizierung der Reaktionszeit zeigt den niedrigsten Effekt auf das Verunreinigungsprofil. Die Erhöhung der Reaktionszeit von vier auf acht Stunden verursacht etwa dieselbe Variation, die man auch für die wiederholten Synthesen findet. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur hat einen stärkeren Einfluss auf das resultierende Verunreinigungsprofil des Endprodukts als die Änderung der PMK-Charge (Edukt) von Charge 1 zu Charge 2.

Die Probe synthetisiert aus PMK Charge 3 unterscheidet sich deutlich von den Proben, die aus den Chargen 1 und 2 unter den gleichen Synthesebedingungen synthetisiert wurden.

Der Einfluss der Edukt-Charge auf die Verunreinigungsprofile lässt eine eindeutige Klassifizierung der Proben, die mit derselben Synthesemethode hergestellt wurden, nicht zu. Der hohe Einfluss der Temperatur verhindert dies ebenfalls.

Durch Betrachtung der Pearson-Korrelationskoeffizienten wird dieser Aspekt ebenso deutlich. Es wurden für jedes Probenpaar innerhalb des oben beschriebenen Probenkomplexes aus den, wie in Abschnitt 4.1.3 beschrieben, vorbehandelten Daten Pearson-Korrelationskoeffizienten r berechnet. Ein Grenzwert für r wurde festgelegt, oberhalb dessen die Proben als zusammenhängend und unterhalb dessen die Proben als nicht zusammenhängend gewertet werden. Hierfür wurde der Grenzwert so gewählt, dass alle Proben innerhalb einer Syntheseroute als zusammenhängend gewertet werden, um eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel zu erreichen. Folglich ist der niedrigste ermittelte Pearson-Korrelationskoeffizient für Proben innerhalb einer Syntheseroute der Grenzwert. Sind nun alle ermittelten Pearson-Korrelationskoeffizienten für die Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten kleiner als dieser ermittelte Grenzwert, so ist eine Einteilung nach Syntheseroute (verwendetes Reduktionsmittel) möglich. Abbildung 4.16 zeigt jeweils die Verteilung der berechneten Pearson-Korrelationskoeffizienten (multipliziert mit dem Faktor 100) für jedes Probenpaar innerhalb der jeweiligen Syntheserouten (Aluminiumamalgam, Kalte Methode und Platinoxid/Wasserstoff) sowie für jedes Probenpaar innerhalb der Kontrollproben. In Abbildung 4.17 ist die Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten (multipliziert mit dem Faktor 100) für die Probenkombinationen dargestellt, bei denen beide Proben unter Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel synthetisiert wurden.

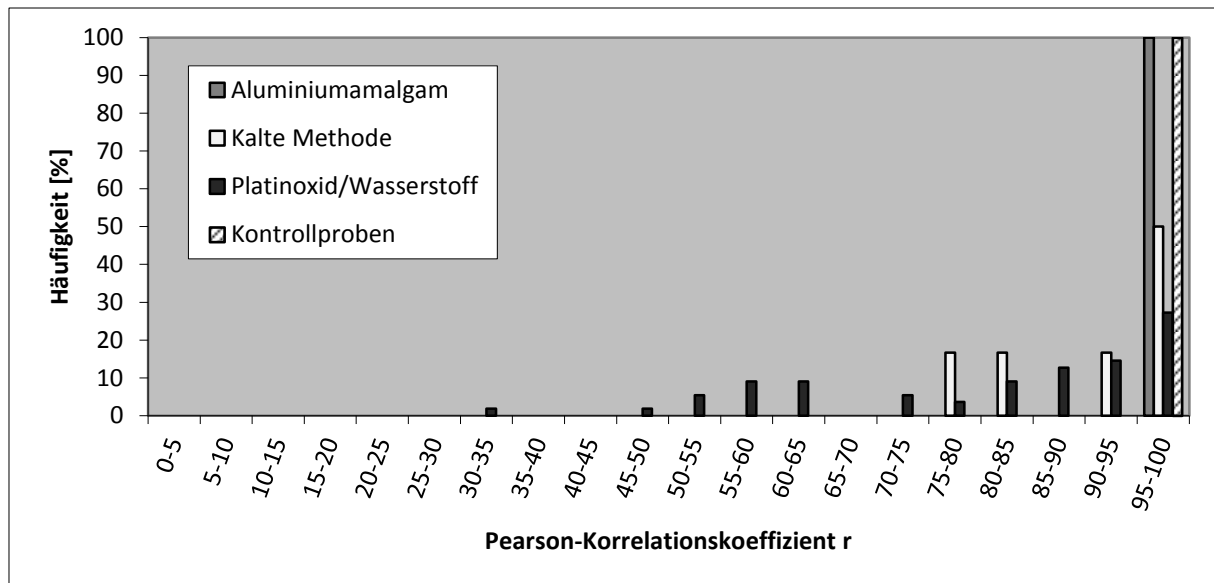


Abbildung 4.16: Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben innerhalb der jeweiligen Syntheserouten und für Proben innerhalb der Kontrollproben

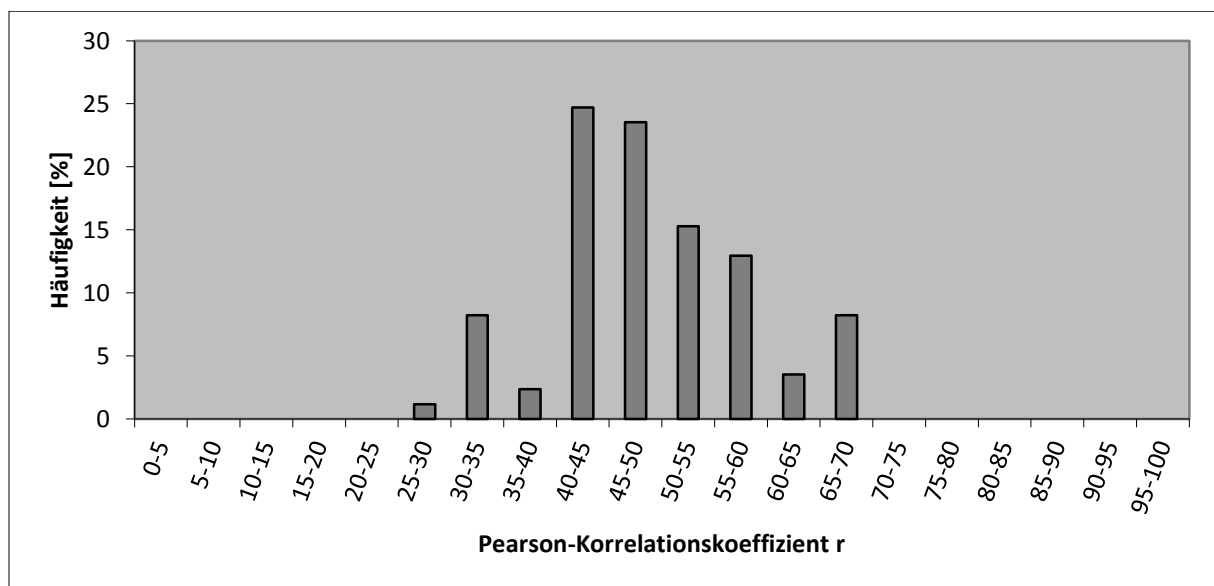


Abbildung 4.17: Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten

Erwartungsgemäß sollten Proben innerhalb einer Syntheseroute beziehungsweise innerhalb der Kontrollproben hohe Korrelationskoeffizienten aufweisen (hohe Ähnlichkeit) und Proben, die unter Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel (unterschiedliche Syntheseroute) hergestellt wurden, sollten niedrige Korrelationskoeffizienten aufweisen (geringe Ähnlichkeit). Die Pearson-Korrelationskoeffizienten für die Kontrollproben liegen im Bereich von 99 bis 98. Die Korrelationskoeffizienten für diese Proben sind sehr nahe an 100, da sie die Reproduzierbarkeit der Analysenmethode repräsentieren. Die Koeffizienten für die

Proben, die unter Verwendung von Natriumborhydrid (Kalte Methode) synthetisiert wurden, liegen im Bereich von 97 bis 77. Die Aluminiumamalgamprobe weist einen Korrelationskoeffizienten von 100 auf, da es sich hier nur um eine Probe handelt. Wie zu erwarten war, sind die Pearson-Korrelationskoeffizienten für die Proben, die unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff hergestellt wurden, breiter gestreut, da diese Proben unter Variation der Reaktionsbedingungen synthetisiert wurden. Die Werte reichen von 96 bis 33. Innerhalb dieses Probenkomplexes befindet sich der niedrigste Wert mit 33. Dieser wurde als Grenzwert herangezogen. Damit nun eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel möglich ist, dürfen die Korrelationskoeffizienten für die Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten nicht höher sein als der ermittelte Grenzwert von 33. Dies ist jedoch, wie in Abbildung 4.17 erkennbar, nicht der Fall. Der höchste Korrelationskoeffizient liegt bei 73. Somit ist eine eindeutige Einteilung der Proben nach Syntheseroute nicht möglich. Um dies zu erreichen dürften die Korrelationskoeffizienten innerhalb der jeweiligen Syntheserouten nicht kleiner sein als 73. Für die Proben, die unter Verwendung von Platinoxid/Wasserstoff als Reduktionsmittel unter Variation der Synthesebedingungen synthetisiert wurden, ist dies jedoch nicht der Fall. Die Änderung der Reaktionstemperatur verursacht Korrelationskoeffizienten zwischen 87 und 53 und aus der Änderung der Edukt-Charge von Charge 1 zu Charge 3 resultieren Korrelationskoeffizienten zwischen 63 und 33. Sowohl die Änderung der Reaktionstemperatur als auch die Änderung der Edukt-Charge verhindert somit die eindeutige Einteilung aller Proben nach verwendeter Syntheseroute.

Für das Dendrogramm in Abbildung 4.15 sowie für die Auftragungen in Abbildung 4.16 und Abbildung 4.17 wurden alle 44 Targetkomponenten berücksichtigt. Im Rahmen des EU-Projekts CHAMP wurden die Targets auf 32 Komponenten reduziert, deren RSD der Peakflächen für Reproduzierbarkeitsmessungen unter 20% liegt [52]. Safrol, Pipronal, Piperonylmethylether, Isosafrol, Methylendioxyamfetamin, Methylendioxyethylamfetamin, Dimethoxymethylendioxyamfetamin, Methylendioxybenzylmethylketoxim, N-(2-Methylendioxyphenyl-1-methylvinyl)-N,N-dimethylamin, N-Methyl-methylendioxy-phenylalanin, Trimethoxy-metamfetamin und Unknown 178 wurden ausgeschlossen.

Für alle 16 Proben (siehe Tabelle 4.6) wurden nun wiederum Pearson-Korrelationskoeffizienten berechnet. Die berechneten Werte beziehen sich auf die Referenzprobe (Wert 1). Um auszuschließen, dass die festgestellten Unterschiede durch instabile Komponenten hervorgerufen werden, wurden die Korrelationskoeffizienten auch für

die 32 stabilen Targets berechnet. Die Ergebnisse entsprechen jedoch denen für 44 Targets (Tabelle 4.6).

Tabelle 4.6 : Pearson-Korrelationskoeffizienten für alle 16 Proben

	Pearson-Korrelationskoeffizient für 44 Targets	Pearson-Korrelationskoeffizient für 32 Targets	Pearson-Korrelationskoeffizient für 8 Targets
Referenzprobe 1	1,0000	1,0000	1,0000
Referenzprobe 2	0,9400	0,9241	0,8746
Referenzprobe 3	0,9752	0,9655	0,9436
MDMA Al/HgCl ₂	0,4905	0,5075	0,6650
MDMA Kalte Methode	0,4396	0,4624	0,3615
MDMA Kalte Methode 2	0,6620	0,7534	0,4890
MDMA Kalte Methode 3	0,6413	0,7219	0,4857
Kontrollprobe Messung 1	0,4349	0,3725	0,4971
Kontrollprobe Messung 2	0,4279	0,3568	0,4896
Kontrollprobe Messung 3	0,4230	0,3545	0,4864
PMK Charge 2	0,8341	0,8113	0,9031
PMK Charge 3	0,5590	0,3904	0,7350
Temperatur 2 (65 °C)	0,7374	0,7081	0,8027
Temperatur 3 (80 °C)	0,5319	0,5386	0,6629
Zeit 2 (4h)	0,9084	0,8992	0,9258
Zeit 3 (8h)	0,8716	0,8602	0,7960

Während des CHAMP-Projekts wurde die Liste der Targets auf 8 Komponenten reduziert, unter deren Verwendung dieselbe eindeutige Klassifizierung der Proben erreicht werden kann wie unter Verwendung der 32 Targets [38]. Korrelationskoeffizienten, die sich nur auf diese 8 Komponenten beziehen, sind ebenfalls in Tabelle 4.6 gelistet. Es resultiert die gleiche Probeneinteilung. Die Variation der Reaktionstemperatur hat immer noch einen großen

Einfluss, und die drei Proben, die unter denselben Synthesebedingungen hergestellt wurden, weichen noch stärker voneinander ab. Es könnte sein, dass die resultierende Klassifizierung der Proben stark von den gewählten Targetkomponenten abhängt. Um diese Vermutung zu verifizieren, wurde im Helmholtz-Zentrum München von Marion Schäffer eine Non-Target-Analyse mit Hilfe von ANOVA auf die Gesamtdatensätze, die mit der zweidimensionalen GC erhoben wurden, angewandt. Die Proben aus den drei verschiedenen Syntheserouten wurden in unterschiedliche Klassen eingeteilt. Ebenso die Proben, die aus unterschiedlichen Vorläufern mit PtO_2/H_2 als Reduktionsmittel hergestellt wurden. Dies soll eine Unterscheidung gemäß Syntheseroute sowie Ausgangsmaterial gewährleisten. Es wurde ein Signifikanz-Level von 0.01 gewählt und zudem eine Schwelle eingeführt, um den Beitrag von Komponenten mit kleinem Signal/Rauschen-Verhältnis, aufgrund ihres niedrigen Beitrags, zu eliminieren. ANOVA wurde pixelbasierend angewandt und die korrespondierenden Komponenten zu den signifikanten Variationen wurden nachträglich identifiziert. Um die Ergebnisse zu verifizieren, wurde die Peakfläche dieser Komponenten im GC×GC Chromatogramm durch Integration der Signale, basierend auf einzelnen Ionen, bestimmt. Die resultierende Peak-Tabelle besteht aus 23 Komponenten, die einer Clusteranalyse unterworfen wurden [53]. Das korrespondierende Dendrogramm ist in Abbildung 4.18 abgebildet.

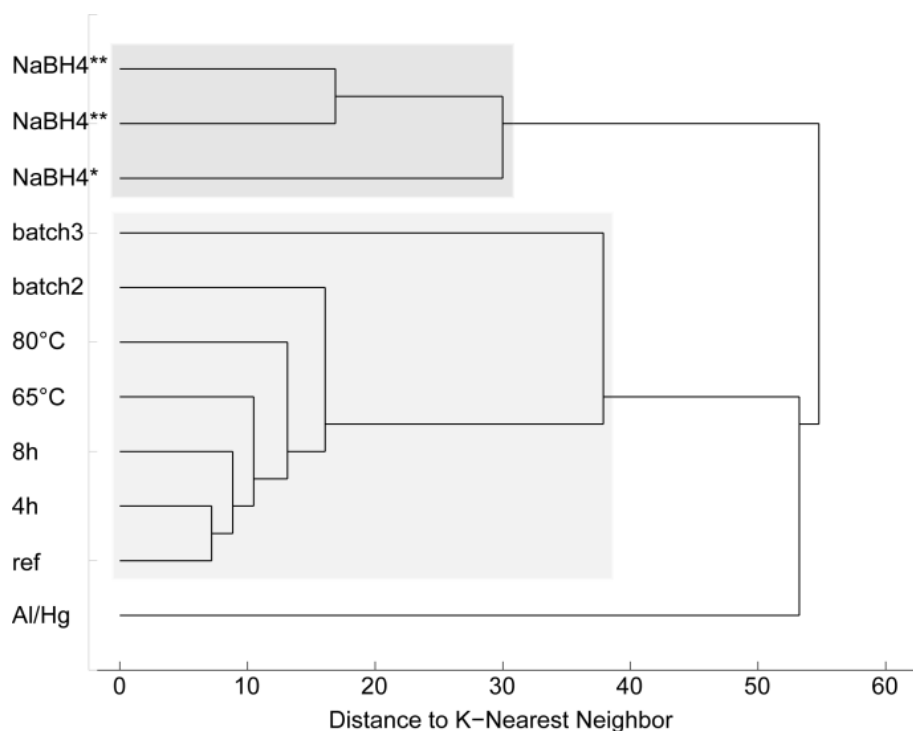


Abbildung 4.18: Hierarchische Clusteranalyse basierend auf den 23 Komponenten [53]

Bei Verwendung dieser 23 Komponenten als Targetkomponenten ist eine komplette Einteilung der Proben anhand der Syntheserouten gegeben. Zudem ist der große Einfluss der Temperatur auf die PtO₂/H₂-Proben deutlich reduziert. Eine Unterscheidung aufgrund der unterschiedlichen PMK-Chargen ist immer noch möglich, obwohl der Unterschied zwischen der Probe aus Charge 2 und allen Proben aus Charge 1 nicht sehr ausgeprägt ist. Die 23 Targetkomponenten haben sich zumindest für die in dieser Studie untersuchten Proben als sehr effektiv erwiesen. Sie enthalten einige der 8 während des EU-Projektes ausgewählten Targets [38] (N-Formylmethylenedioxyamfetamin, N-Acetylmethylenedioxyamfetamin und Di-[1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-2-propyl]methylamin) aber auch einige instabile Komponenten (Safrol, Isosafrol), die während des EU-Projektes aufgrund der hohen RSD der Peakflächen ausgeschlossen wurden. Wie bereits oben erwähnt, spielt dies für die hier untersuchten Proben keine große Rolle. Es kann aber sein, dass die Ergebnisse nicht auf Realproben übertragen werden können. Sie zeigen jedoch, dass die resultierende Probeneinteilung stark abhängig von der Wahl der Targetkomponenten ist.

4.2.3 Änderung des chemischen Profils der resultierenden MDMA-Salze bei unterschiedlichen Fällungsbedingungen

Neben den unterschiedlichen Bedingungen während der Synthese an sich können auch unterschiedliche Bedingungen bei der Fällung der MDMA-Base zum MDMA-Salz die organischen Spurenverunreinigungsprofile des Endproduktes beeinflussen. Der Großteil der Ecstasy-Tabletten enthält MDMA-Hydrochlorid als Hauptwirkstoff, aber auch MDMA-Bromid, -Iodid oder -Sulfat wird gefunden. Es ist zudem möglich, dass die Temperatur, bei der gefällt wird, sowie ein anschließender Waschschrift Einfluss nehmen. Daher wird im Folgenden abschließend auf den Einfluss der Fällungsbedingungen auf das Spurenverunreinigungsprofil des resultierenden MDMA-Salzes eingegangen. Um diesen Einfluss untersuchen zu können, wurden MDMA-Proben untersucht, die unter kontrollierten Bedingungen gefällt wurden. Eine sichergestellte MDMA-Base, hergestellt durch reduktive Aminierung, wurde als Ausgangsmaterial verwendet. Für die Fällung wurden HCl, HBr und HI verwendet, und die Fällung wurde jeweils bei Raumtemperatur und 0 °C durchgeführt. Die so entstandenen Hydrobromid- und Hydrochlorid-Proben wurden dann noch einmal aufgeteilt und entweder so verwendet oder mit Aceton bzw. Ether gewaschen. Die Hydroiodid-Proben wurden so verwendet und nicht gewaschen. Die Proben wurden im Fachbereich KT 34 und KT 11 des Bundeskriminalamtes Wiesbaden hergestellt. In Tabelle 4.7 findet sich eine Übersicht der Fällungsproben. Die Analyse der Proben erfolgte wiederum mit der

harmonisierten GC-MS-Methode für das organische Impurityprofiling von MDMA. Die erhaltenen Daten wurden wie in Kapitel 4.1.3 beschrieben vorbehandelt.

Tabelle 4.7: Fällungsbedingungen für die Proben

Probenname	Fällungsreagenz	Temperatur	Gewaschen mit
HCl 0 °C	HCl	0 °C	-
HCl 0 °C w	HCl	0 °C	Aceton bzw. Ether
HCl RT	HCl	Raumtemperatur	-
HCl RT w	HCl	Raumtemperatur	Aceton bzw. Ether
HBr 0 °C	HBr	0 °C	-
HBr 0 °C w	HBr	0 °C	Aceton bzw. Ether
HBr RT	HBr	Raumtemperatur	-
HBr RT w	HBr	Raumtemperatur	Aceton bzw. Ether
HI 0 °C w	HI	0 °C	Aceton bzw. Ether
HI RT w	HI	Raumtemperatur	Aceton bzw. Ether

4.2.3.1 Einfluss des salzbildenden Anions

Zunächst wurde der Einfluss des salzbildenden Anions auf das organische Spurenverunreinigungsprofil des resultierenden MDMA-Salzes untersucht. Abbildung 4.19 zeigt das Dendrogramm basierend auf euklidischen Distanzen für sechs Proben, jeweils zwei Hydrochloride, zwei Hydrobromide und zwei Hydroiodide. Die Fällungen für jedes Salz wurden je einmal bei Raumtemperatur (RT) und bei 0 °C durchgeführt.

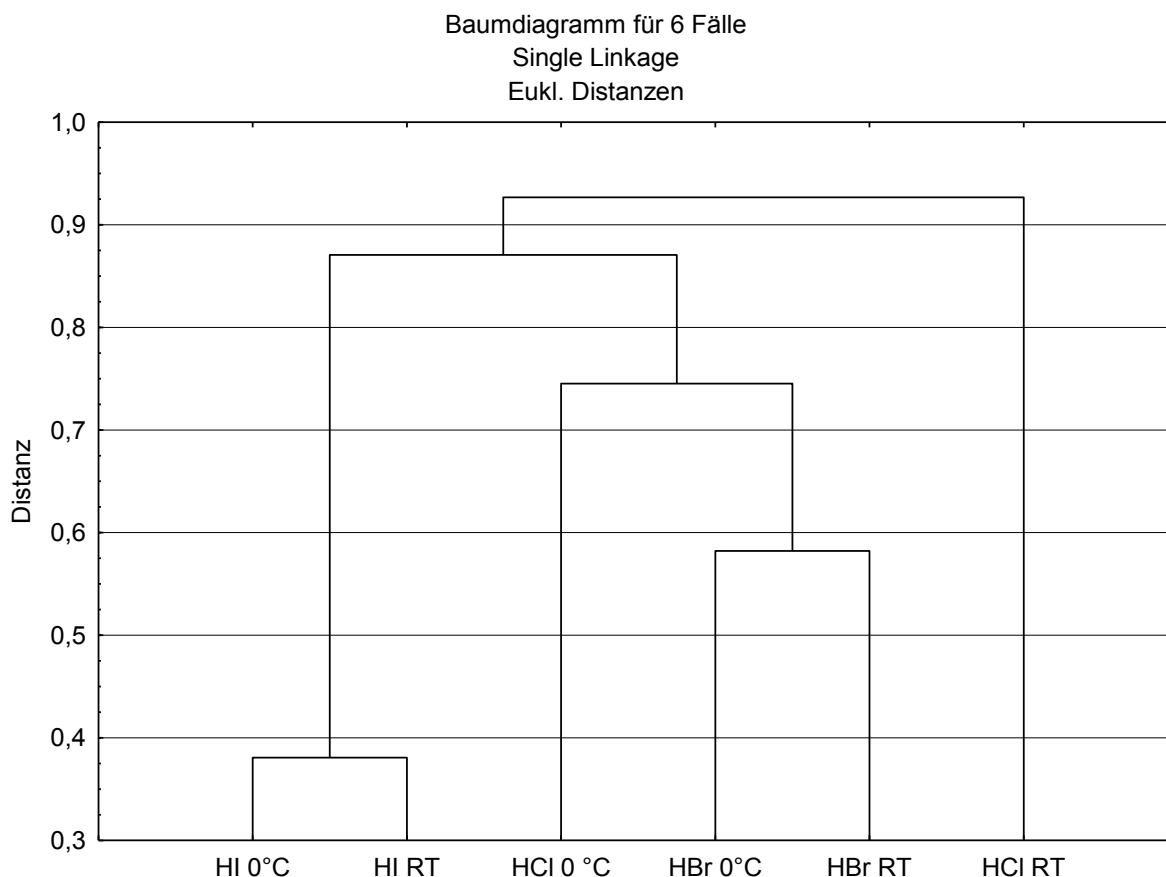


Abbildung 4.19: Dendrogramm für den Einfluss des salzbildenden Anions

Die Hydroiodide sind deutlich von den Hydrochloriden und Hydrobromiden abgetrennt. Hier hat die Fällungstemperatur einen geringeren Einfluss als das salzbildende Anion. Die Hydrochlorid- und Hydrobromidproben lassen sich nicht deutlich voneinander abgrenzen. Hier hat die Fällungstemperatur einen größeren Einfluss als das salzbildende Anion. Verantwortlich für Variationen innerhalb der organischen Spurenverunreinigungsprofile sind hauptsächlich die Targetkomponenten Piperonal, Piperonylalkohol, MD-DPIMA(1+2), MD-DPIA(1+2) und N-Formyl-MDMA. Alle Distanzen sind sehr klein, die Fällungsbedingungen haben keinen großen Einfluss auf das Spurenverunreinigungsprofil im Endprodukt.

4.2.3.2 Einfluss des Waschschrattes

Häufig werden die gefällten MDMA-Salze zur weiteren Aufreinigung noch mit Aceton oder Ether gewaschen. Im Folgenden wird nun auf den Einfluss dieses Waschschrattes auf das Spurenverunreinigungsprofil eingegangen. Abbildung 4.20 zeigt das Balkendiagramm der normierten Target-Peakflächen für MDMA-Hydrochlorid einmal gewaschen und einmal ungewaschen.

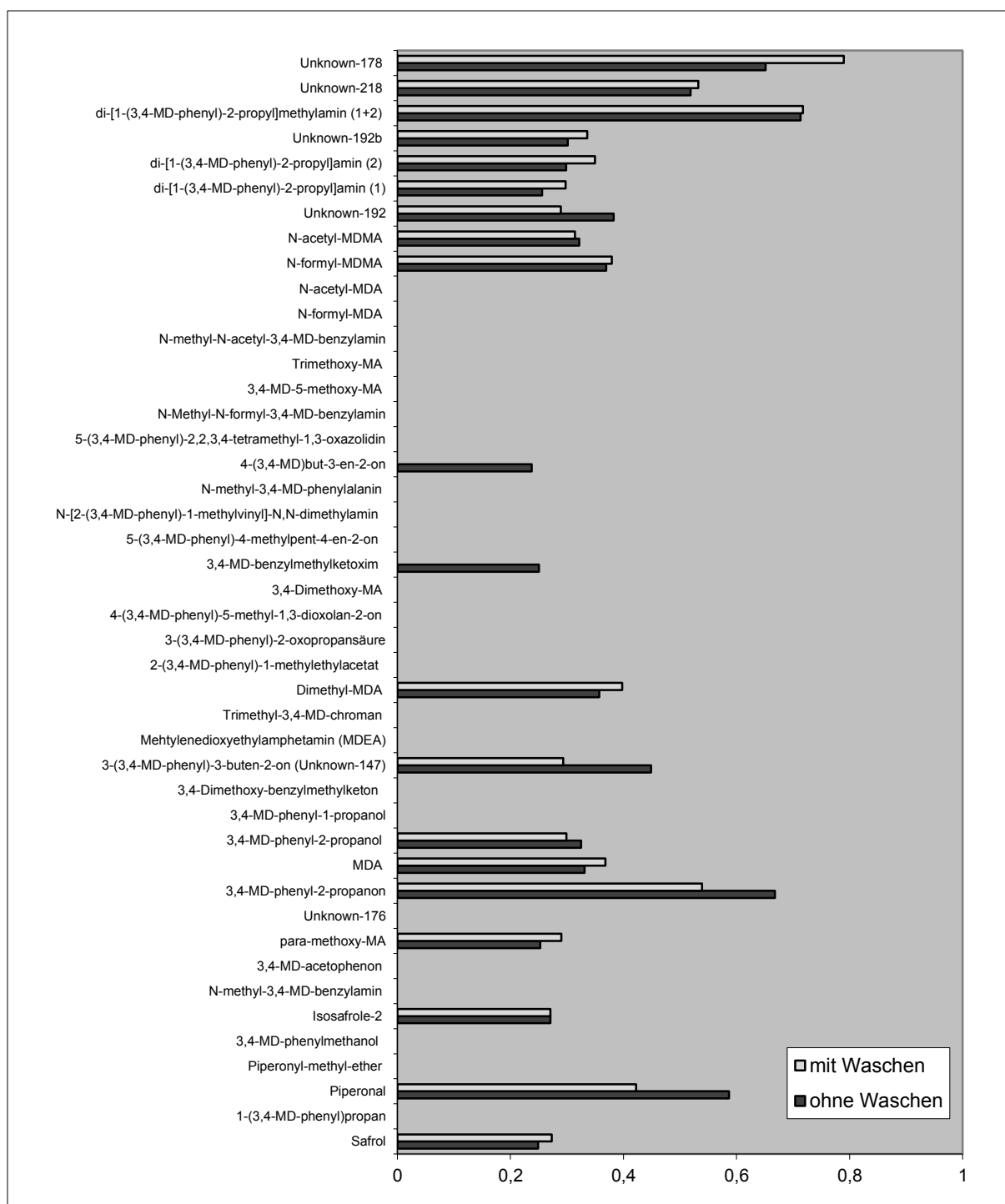


Abbildung 4.20: Einfluss des Waschschrtes auf den Gehalt an Targetkomponenten in MDMA-HCl
Auftragung der auf die Summe aller Peakflächen normierten Peakflächen
Messbedingungen wie in Abbildung 4.12

Durch den Waschschrte erfolgt keine wesentliche Reduzierung der Gehalte an Targetkomponenten. Lediglich die Targetkomponenten 4-(3,4-MD)but-3-en-2-on und 3,4-MD-benzylmethylketoxim werden vollständig ausgewaschen.

Um nun den Einfluss des Waschschrtes auf das organische Spurenverunreinigungsprofil in Relation zu den Einflüssen der anderen Fällungsbedingungen (Temperatur und salzbildendes

Anion) auf das organische Spurenverunreinigungsprofil setzen zu können, ist in Abbildung 4.21 das Dendrogramm basierend auf euklidischen Distanzen für die sechs Proben aus dem vorangegangenen Kapitel 4.2.3.1 sowie für je ein ungewaschenes Hydrochlorid und ein ungewaschenes Hydrobromid bei 0 °C und bei Raumtemperatur abgebildet. Ein ungewaschenes Hydroiodid stand nicht zur Verfügung. Die sechs Proben aus dem vorangegangenen Kapitel sind alle gewaschen.

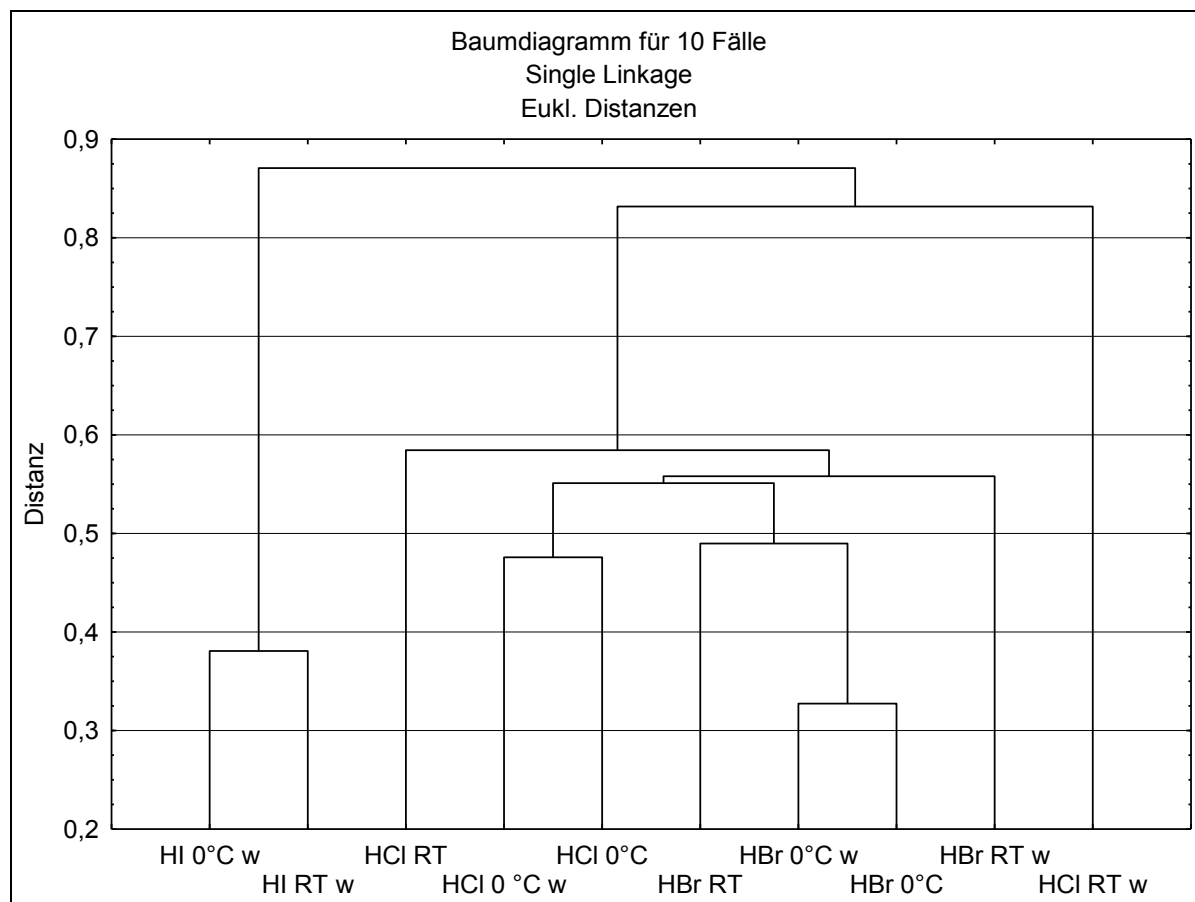


Abbildung 4.21: Dendrogramm für den Einfluss des Waschschrtes

Der Waschschrte hat nur teilweise einen größeren Einfluss auf das Spurenverunreinigungsprofil als das salzbildende Anion und als die Fällungstemperatur. Es kann keine klare Probeneinteilung erfolgen, weder nach salzbildendem Anion, noch nach der Fällungstemperatur oder dem Waschschrte. Auch hier sind die Distanzen alle sehr klein.

4.2.3.3 Einfluss der Änderung der Fällungsbedingungen auf die Probeneinteilung

Um nun den Einfluss der Variation der Fällungsbedingungen auf das organische Spurenverunreinigungsprofil in Bezug auf die Probeneinteilung beurteilen zu können, wurden zunächst die euklidischen Distanzen der Proben zu den euklidischen Distanzen von einem

Teil der Proben, resultierend aus der reduktiven Aminierung mittels Platinoxid/Wasserstoff, in Relation gesetzt. Hierfür wurden die Proben ausgewählt, bei deren Synthese die PMK-Charge geändert wurde, um zu überprüfen, ob die Einteilung der Proben nach PMK-Charge durch den Einfluss unterschiedlicher Fällungsbedingungen auf das Spurenverunreinigungsprofil gestört wird. Auch wurden die Referenzproben 1 bis 3 (gleiche Synthesebedingungen) gewählt, um den Einfluss der Fällungsbedingungen in Relation zu dem Einfluss der Reproduzierbarkeitsschwankungen bei identischen Synthesebedingungen setzen zu können. Das resultierende Dendrogramm ist in Abbildung 4.22 dargestellt.

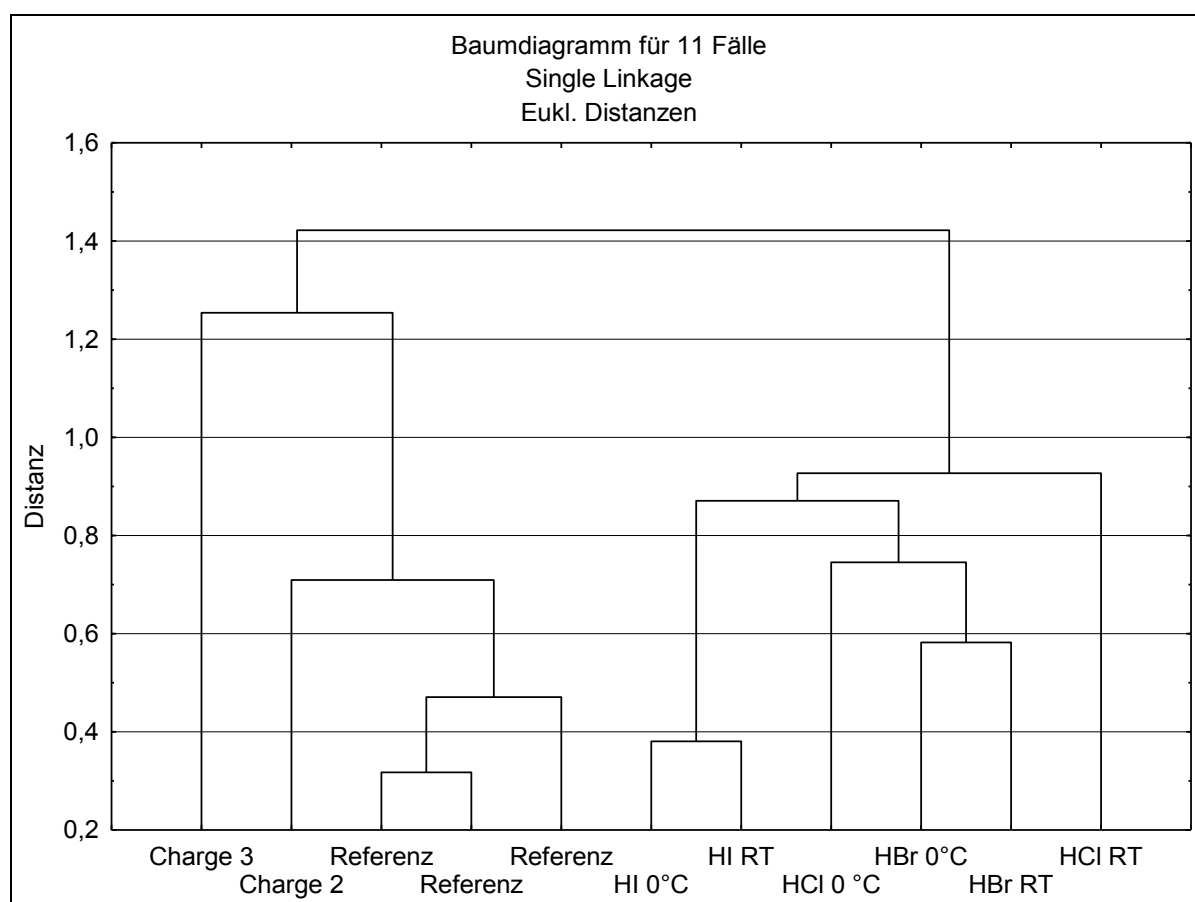


Abbildung 4.22: Dendrogramm zur Beurteilung der Unterschiede

Es ist eindeutig eine Klassifizierung in die Fällungsproben und die mittels reduktiver Aminierung mit Platinoxid/Wasserstoff synthetisierten Proben möglich. Die Variation der Fällungsbedingungen verhindert nicht die Einteilung der Proben nach verwendeter PMK-Charge. Die Distanzen innerhalb der Fällungsproben sind jedoch größer, als die Distanzen innerhalb der Referenzproben 1-3. Der Einfluss unterschiedlicher Fällungsbedingungen auf das organische Spurenverunreinigungsprofil ist also größer, als der Einfluss der Reproduzierbarkeitsschwankungen bei identischen Synthesebedingungen. Um nun zu

untersuchen, ob eine Änderung der Fällungsbedingungen bei der Synthese die Probeneinteilung nach verwendetem Reduktionsmittel stört, wurden Pearson-Korrelationskoeffizienten, unter Verwendung der wie üblich vorbehandelten Daten, für die Fällungsproben, die Referenzproben 1 bis 3, die mittels reduktiver Aminierung mit Natriumborhydrid synthetisierten Proben und die mittels reduktiver Aminierung mit Aluminiumamalgam synthetisierte Probe berechnet und sind in Tabelle 4.8 aufgeführt. Die berechneten Koeffizienten beziehen sich immer auf die Referenzprobe 1.

Tabelle 4.8: Pearson-Korrelationskoeffizient je Probe

Probe	Pearson-Korrelationskoeffizient
Al/HgCl ₂	0,4905
NaBH ₄	0,6620
NaBH ₄	0,6413
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 1)	1,0000
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 2)	0,9400
PtO ₂ /H ₂ (Referenz 3)	0,9752
HBr 0 °C	0,3197
HBr 0 °C mit Waschen	0,2601
HBrRT	0,3327
HBrRT mit Waschen	0,3351
HCl 0 °C	0,2585
HCl 0 °C mit Waschen	0,2140
HCIRT	0,2295
HCIRT mit Waschen	0,2180
HI 0 °C mit Waschen	0,3461
HIRT mit Waschen	0,3104

Die Korrelationskoeffizienten für die Fällungsproben liegen im Bereich von 0,21 bis 0,35, die Korrelationskoeffizienten für die Platinoxid/Wasserstoff-Proben im Bereich von 0,94 bis 1, die Korrelationskoeffizienten für die Natriumborhydrid-Proben im Bereich von 0,64 bis 0,66 und der Korrelationskoeffizient für die Aluminiumamalgam-Probe liegt bei 0,49. Eine Variation der Fällungsbedingungen stört die Einteilung nach verwendetem Reduktionsmittel nicht.

Um diese Aussage zu verifizieren, wurden wiederum, analog zu Abschnitt 4.2.2.8, für jedes Probenpaar innerhalb des in Tabelle 4.8 aufgeführten Probenkomplexes aus den, wie in Abschnitt 4.1.3 beschrieben, vorbehandelten Daten Pearson-Korrelationskoeffizienten r berechnet. Abbildung 4.23 zeigt jeweils die Verteilung der berechneten Pearson-Korrelationskoeffizienten (multipliziert mit dem Faktor 100) für jedes Probenpaar innerhalb der jeweiligen Syntheserouten (Aluminiumamalgam, Kalte Methode und Platinoxid/Wasserstoff) sowie für jedes Probenpaar innerhalb der Fällungsproben. In Abbildung 4.24 ist die Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten (multipliziert mit dem Faktor 100) für die Probenkombinationen dargestellt, bei denen beide Proben unter Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel synthetisiert wurden.

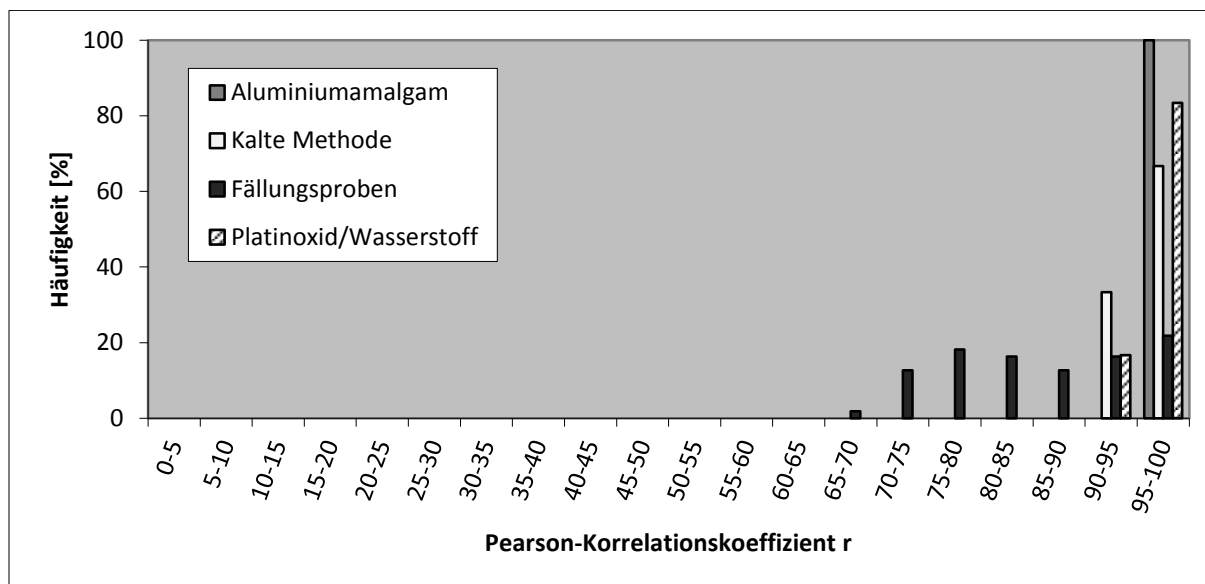


Abbildung 4.23: Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben innerhalb der jeweiligen Syntheserouten und für Proben innerhalb der Kontrollproben

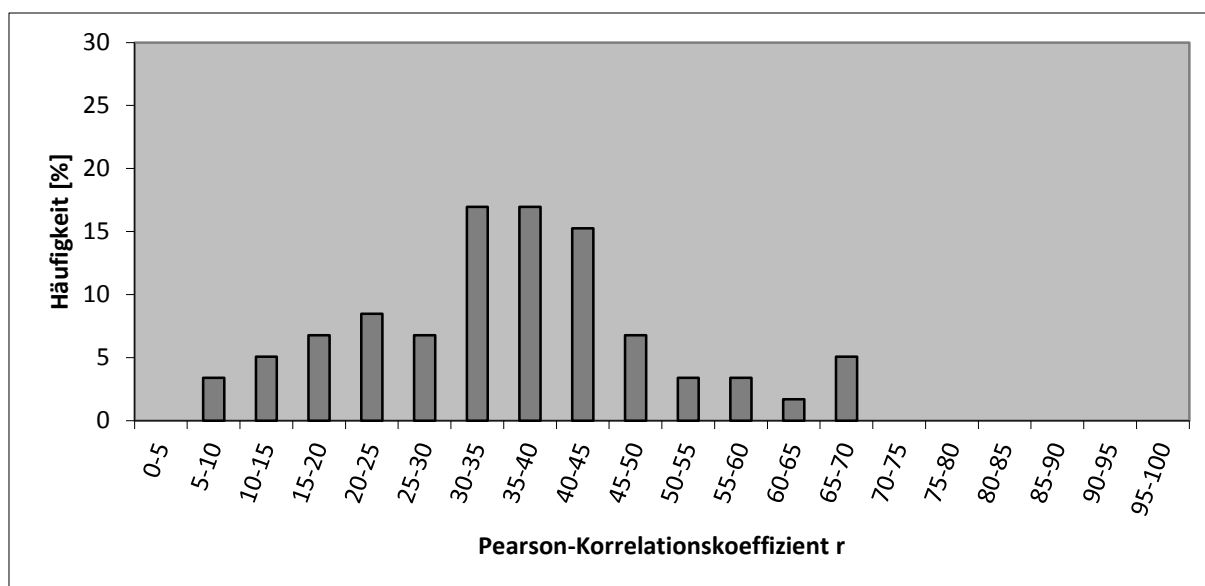


Abbildung 4.24: Verteilung der Pearson-Korrelationskoeffizienten r (multipliziert mit 100) für Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten

Ein Grenzwert für r wurde wiederum so gewählt, dass alle Proben innerhalb einer Syntheseroute als zusammenhängend gewertet werden, um eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel zu erreichen (vergleiche Abschnitt 4.2.2.8). Dieser Grenzwert entspricht dem niedrigsten ermittelten Pearson-Korrelationskoeffizienten für Proben innerhalb einer Syntheseroute und beträgt hier 68. Dieser Wert befindet sich innerhalb des Probenkomplexes der Fällungsproben.

Damit nun eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel möglich ist, dürfen die Korrelationskoeffizienten für die Proben aus unterschiedlichen Syntheserouten nicht höher sein als der ermittelte Grenzwert von 68. Dies ist, wie in Abbildung 4.24 ersichtlich, knapp der Fall. Eine Änderung der Fällungsbedingungen verhindert eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel folglich nicht.

Die hier untersuchten Fällungsproben wurden ebenfalls mit zweidimensionaler Gaschromatographie am Helmholtzzentrum München untersucht. Die Ergebnisse wurden jedoch nur in sich verglichen und nicht in Relation zu anderen Synthesen gesetzt. Hierbei wurden nicht nur die 44 Targetkomponenten aus dem harmonisierten GC-MS-Verfahren für den Vergleich herangezogen, sondern alle in den Proben enthaltenen Verunreinigungen (968 Peaks). Hieraus resultierten ähnliche Ergebnisse, es erfolgte jedoch eine klare Einteilung der Fällungsproben nach dem salzbildenden Anion [42].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei Verwendung der routinemäßig für den Materialvergleich von MDMA-Hydrochlorid eingesetzten GC-MS-Methode die Änderung der

Reaktionsbedingungen bei der reduktiven Aminierung mittels Platinoxid/Wasserstoff einen relevanten Einfluss auf die organischen Spurenverunreinigungsprofile hat. Bei Verwendung der für die harmonisierte Methode vorgesehenen Targetkomponenten ist eine präzise Einteilung aller Proben nach verwendeter Syntheseroute nicht mehr möglich, wenn sich die Reaktionstemperatur oder der chemische Ursprung der verwendeten Vorläufersubstanzen ändert. Auch konnte gezeigt werden, dass Änderungen der Fällungsbedingungen ebenfalls einen Einfluss auf die organischen Spurenverunreinigungsprofile haben. Dieser ist für den in dieser Arbeit untersuchten Probenkomplex größer als der Einfluss von Reproduzierbarkeitsschwankungen bei identischer Synthese, jedoch geringer als der Einfluss durch die Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel. Dies sollte bei der Interpretation der Ergebnisse des Materialvergleichs von MDMA-Hydrochloriden in Betracht gezogen werden. Durch Änderung der Wahl der für den organischen Materialvergleich verwendeten Targetkomponenten kann der Einfluss der Änderung der Synthesebedingungen bei der Herstellung von MDMA-HCl auf das organische Spurenverunreinigungsprofil des Endprodukts geschmälert werden. Eine Einteilung der Proben nach verwendetem Reduktionsmittel sowie nach verwendeter PMK-Charge ist dann möglich.

5 Chirale Identifizierung von Rauschgiften, Zusatzstoffen und Verunreinigungen mittels Kapillarelektrophorese-ESI-Massenspektrometrie

Die meisten Rauschgifte sowie einige Zusatzstoffe illegaler Rauschgiftzubereitungen liegen als optische Isomere mit unterschiedlichen psychotropen Aktivitäten vor. Einige Rauschgifte sind daher in unterschiedlichen Anlagen des deutschen Betäubungsmittelgesetzes aufgeführt. Somit ist die enantioselektive Bestimmung des Rauschgiftes an sich, aber auch die enantioselektive Bestimmung der chiralen Zusatzstoffe und Verunreinigungen von forensischer Relevanz. Die Kapillarelektrophorese weist auf dem Gebiet der Enantiomerenanalytik Vorteile gegenüber der HPLC und der GC auf und wird daher häufig in der chiralen Analytik eingesetzt. Im Unterschied zur HPLC, für die teure Spezialsäulen benötigt werden, und zur GC, bei der eine vorherige Derivatisierung der Analyte mit einem chiralen Reagenz zur Bildung trennbarer Diastereomere erforderlich ist, oder ebenfalls chirale Säulen verwendet werden müssen, lässt sich in der CE eine hohe Enantiomerenauflösung einfach durch Zugabe chiraler Selektoren, wie zum Beispiel polarer Cyclodextrine, zum Laufpuffer erreichen [27, 32, 33, 16, 17, 31, 26]. Der Einsatz massenspektrometrischer Detektion erlaubt anschließend die sichere Identifizierung der Analyte. Chirale CE-ESI-MS wurde bereits in der forensischen Drogenanalytik bei der chiralen Analyse von Metamfetamin und dessen Metaboliten eingesetzt [54, 55].

In dieser Arbeit ist die Entwicklung, Optimierung und Validierung einer flexiblen Kapillarelektrophoresemethode mit massenspektrometrischer Detektion zur chiralen Identifizierung einer Vielzahl von Rauschgiften, Zusatzstoffen und Verunreinigungen angestrebt. Ziel der Optimierung ist die Basislinientrennung eines breiten Spektrums an Rauschgiften unterschiedlicher Substanzklassen. Zur sicheren Identifizierung einer Substanz sind mindestens zwei voneinander unabhängige Analysemethoden notwendig. Durch die Kombination von Kapillarelektrophorese als elektrophoretische Trennmethode und Massenspektrometrie als spektrometrische Analysemethode ist diese Bedingung erfüllt.

In einem ersten Schritt werden die Auswirkungen der Einstellungen am Massenspektrometer-ESI-Interface auf die nichtchirale Trennung einer Phenylethylaminstandardmischung untersucht, und es wird eine Optimierung im Hinblick auf Auflösung und Nachweisgrenzen durch Parametervariation durchgeführt. Anschließend wird die Enantiomerentrennung erreicht, indem chirale Selektoren wie Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin oder sulfatiertes

beta-Cyclodextrin dem Trennpuffer zugesetzt werden. Da diese jedoch nicht leichtflüchtig sind, können sie die massenspektrometrische Detektion stören. Aus diesem Grund müssen Techniken entwickelt werden, die den Übergang der Selektoren in das Massenspektrometer einschränken.

5.1 Durchführung

Um optimale Nachweisgrenzen und Auflösungen für die Analyte zu erzielen, ist sowohl auf der Seite der elektrophoretischen Trennung als auch auf der Detektionsseite (Massenspektrometer) eine Methodenentwicklung und Optimierung erforderlich. In einem ersten Schritt wurden am Massenspektrometer die Einstellungen der Hilfsflussrate, des Nebulizerdrucks, der Trockengastemperatur, der Trockengasflussrate und der Targetmasse sowie die Hilfsflusszusammensetzung optimiert [56]. In einem zweiten Schritt erfolgte die Optimierung der Trennung auf der elektrophoretischen Seite. Die Methodenentwicklung, Optimierung und Validierung wurde mit dem im Anhang (Abschnitt 12.1.1) näher beschriebenen CE-ESI-MS-System I durchgeführt.

5.1.1 Optimierung der Massenspektrometereinstellungen

Für die Optimierung der Massenspektrometereinstellungen wurden als Modellanalyte Amfetamin, Metamfetamin, Ephedrin, Pseudoephedrin, Norephedrin, Methylephedrin und Synephrin verwendet, da dies ein breites Spektrum häufig vorkommender Betäubungsmittel und Zusätze darstellt. Die elektrophoretische Trennung der Analyte erfolgte hierfür zunächst achiral bei einer Spannung von +25 kV unter Verwendung von 100 mmol/L Ameisensäure + 10 % Isopropanol als Laufpuffer, da dies ein häufig für die Kapillarelektrophorese gekoppelt mit der Massenspektrometrie verwendeter Puffer ist.

Die Stammlösungen der Referenzsubstanzen Amfetamin, Metamfetamin, Ephedrin, Norephedrin, Pseudoephedrin und Synephrin bestanden aus einer wässrigen Lösung mit einer Konzentration von 5 mmol/L. Die Stammlösung der Referenzsubstanz N-Methylephedrin bestand aus einer methanolischen Lösung mit einer Konzentration von 5 mmol/L. Für die CE-ESI-MS-Messungen wurden die Stammlösungen 1:200 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt.

5.1.2 Optimierung der chiralen Trennung

Für die Optimierung der chiralen Trennung wurden als Modellanalyte Methadon, MDMA, Amfetamin, N-Methylephedrin, Norephedrin, Synephrin, Metamfetamin und Tetramisol

verwendet, da diese Auswahl ein breites Spektrum an häufig vorkommenden Betäubungsmitteln und Zusätzen repräsentiert und die chirale Information bei diesen Substanzen von forensischer Relevanz ist. Die Lösungen der Referenzsubstanzen Amfetamin, Metamfetamin, Norephedrin, Synephrin und Tetramisol wurden wie in Abschnitt 5.1.1. beschrieben für die Messungen angesetzt. Die Stammlösung der Referenzsubstanzen Methadon und MDMA bestanden ebenfalls aus einer wässrigen Lösung mit einer Konzentration von 5 mmol/L. Diese wurden ebenfalls für die CE-ESI-MS-Messungen 1:200 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt. Die Optimierung der chiralen Trennung erfolgte bei den im ersten Schritt optimierten Massenspektrometereinstellungen.

Die Herstellung der in Abschnitt 5.2.3 mit der optimierten chiralen CE-ESI-MS-Methode gemessenen Probelösungen erfolgte durch Lösen von circa 20 mg homogenisierter Probe in 1 ml Wasser. Für die CE-ESI-MS-Messungen wurden die Probelösungen 1:20 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt.

5.2 Ergebnisse und Diskussion

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Methodenentwicklung, die Validierung der CE-ESI-MS-Methode sowie einige Anwendungsbeispiele dargestellt.

5.2.1 Methodenentwicklung

5.2.1.1 Optimierung der Massenspektrometereinstellungen

Die Optimierung der Massenspektrometereinstellungen erfolgte bei den in Tabelle 5.1 aufgeführten Trennbedingungen.

Tabelle 5.1: Trennbedingungen für die Optimierung der Massenspektrometereinstellungen

Parameter	Wert
Probenaufgabe	5 s bei 3,45 kPa
Trennkapillare	75 µm Innendurchmesser und 90 cm Länge
Temperatur	20 °C
Trennpuffer	100 mmol/L Ameisensäure + 10% Isopropanol
Spannung	+25 kV

Die Referenzsubstanzen Amfetamin, Metamfetamin, Ephedrin, Pseudoephedrin, Norephedrin, Methylephedrin und Synephrin wurden für die Optimierung jeweils bei einer Konzentration von 25 µmol/L gemessen. Als interner Standard wurde Benzylamin verwendet.

Zuerst wurde die Hilfsflusszusammensetzung optimiert. In Tabelle 5.2 sind die Variation der Hilfsflusszusammensetzung und die Auswirkungen daraus auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis am Beispiel von Amfetamin als Prototyp der Phenylethylamine dargestellt. Auf alle anderen Analyte wirkt sich die Hilfsflusszusammensetzung ähnlich aus. Es wurden zunächst Mischungen aus 2-Propanol und Wasser, Methanol und Wasser sowie Acetonitril und Wasser getestet. Eine Mischung aus 2-Propanol und Wasser stellte sich als optimal heraus. Daher wurde im nächsten Schritt das Mischungsverhältnis von 2-Propanol mit Wasser variiert. Ein Mischungsverhältnis von 1:1 war hierbei optimal. Abschließend wurde noch die Auswirkung von einer Zugabe von Ameisensäure zu der optimierten Hilfsflusszusammensetzung untersucht. Die Optimierungsschritte sowie die zugehörigen Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (S/N) sind in Tabelle 5.2 dargestellt. Die Hilfsflussrate betrug jeweils 3 µL/min, der Nebulizerdruck betrug 4 psi, die Temperatur des Stickstofftrockengases betrug 250 °C und dessen Flussrate 4 L/min. Als Targetmasse wurde 220 m/z gewählt, da die Analyte Molmassen zwischen 150 g/mol und 310 g/mol besitzen.

Tabelle 5.2: Variation der Hilfsflusszusammensetzung

Hilfsflusszusammensetzung	S/N
Methanol / H ₂ O 50/50	35,62
Acetonitril / H ₂ O 50/50	71,10
2-Propanol / H ₂ O 50/50	324,22
2-Propanol / H ₂ O 20/80	54,91
2-Propanol / H ₂ O 30/70	42,78
2-Propanol / H ₂ O 40/60	26,89
2-Propanol / H ₂ O 50/50	324,22
2-Propanol / H ₂ O 60/40	317,64
2-Propanol / H ₂ O 50/50 + 0,25% Ameisensäure	146,21
2-Propanol / H ₂ O 50/50 + 0,5 % Ameisensäure	151,50
2-Propanol / H ₂ O 50/50 + 1 % Ameisensäure	118,59

Bei Verwendung von 2-Propanol und Wasser ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis am besten. Auch ist hierbei ein Mischungsverhältnis von 1:1 zu bevorzugen, da ein 2-Propanolanteil von über 60 % einen Stromzusammenbruch bewirkt und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei einem Wasseranteil von über 50 % etwas schlechter wird. Eine Zugabe von Ameisensäure bewirkt eine Abnahme der Empfindlichkeit, daher wurde darauf verzichtet.

Die Hilfsflussrate wurde nun im Bereich von 1 bis 6 $\mu\text{l}/\text{min}$ variiert. 3 $\mu\text{l}/\text{min}$ stellten sich als optimal heraus. Darunter entsteht kein stabiles Spray und darüber wird das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) schlechter. Dies ist durch zu starke Verdünnung der Analyte durch den Hilfsfluss zu erklären [56]. Abbildung 5.1 zeigt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in Abhängigkeit der Hilfsflussrate wiederum am Beispiel von Amfetamin. Die Änderung der Hilfsflussrate wirkt sich ebenfalls ähnlich auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der anderen Analyte aus.

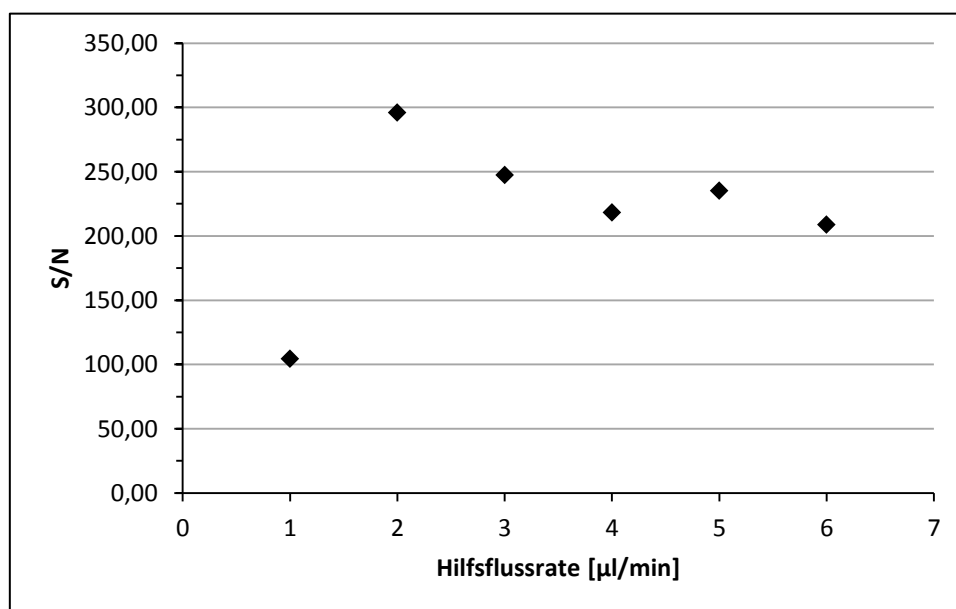


Abbildung 5.1: Auftragung der Hilfsflussrate gegen das Signal-zu-Rausch-Verhältnis für Amfetamin
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v);
Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min;
Targetmasse: 220 m/z

Der Nebulizerdruck wurde im Bereich von 2 bis 8 psi variiert. Ein Druck von 4 psi stellte sich als optimal heraus. Mit zunehmendem Druck wird die Auflösung schlechter, verbunden mit einer Verkürzung der Migrationszeit, das heißt mit zunehmendem Nebulizerdruck wird die Flüssigkeit infolge des Bernoulli-Effekts angesogen, was zu einer hydrodynamischen Bandenverbreiterung führt. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wird mit zunehmendem

Nebulizerdruck zunächst besser, da ein zu geringer Druck große geladene Tropfen im Elektrospray bewirkt, was eine geringere Empfindlichkeit zur Folge hat [56]. Abbildung 5.2 zeigt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in Abhängigkeit vom Druck am Beispiel von Amfetamin als Prototyp der Phenylethylamine und Abbildung 5.3 die Migrationszeit in Abhängigkeit vom Druck ebenfalls am Beispiel von Amfetamin. Der Nebulizerdruck wirkt sich auf die Trennung aus, da dieser einen druckinduzierten Fluss in der Trennkapillare erzeugt [56]. Je höher der Nebulizerdruck ist, desto größer ist der induzierte Fluss. Die Migrationszeiten werden kürzer. Die Änderung des Nebulizerdrucks wirkt sich ebenfalls ähnlich auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis sowie die Migrationszeit der anderen Analyte aus.

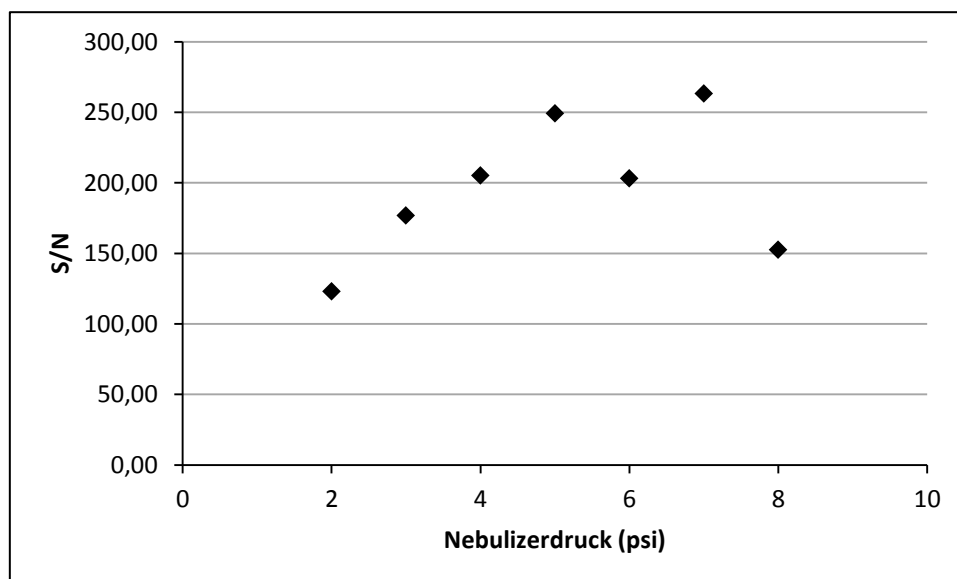


Abbildung 5.2: Auftragung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses gegen den Nebulizerdruck für Amfetamin
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min ; Targetmasse: 220 m/z

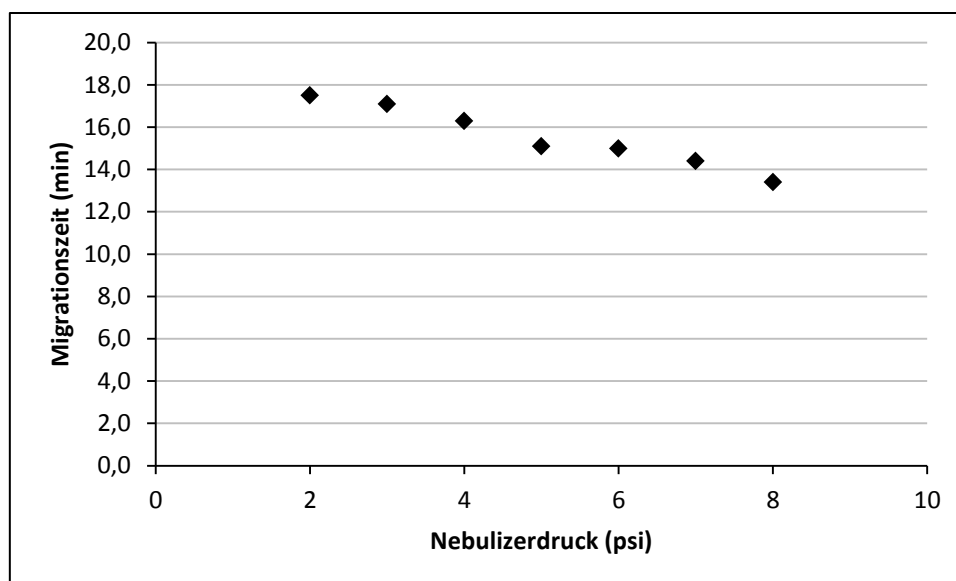


Abbildung 5.3: Auftragung der Migrationszeit gegen den Nebulizerdruck für Amfetamin
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}$ C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

Am Beispiel von Ephedrin und Pseudoephedrin ist deutlich zu erkennen, dass die Auflösung mit zunehmendem Druck schlechter wird. Dies ist in Abbildung 5.4 dargestellt. Durch Anlegen des Nebulizerdrucks entsteht aufgrund des Bernoulli-Effekts eine Druckdifferenz, die zur Ausbildung eines parabolischen Strömungsprofils führt. Dieser Effekt führt zu einem zusätzlichen Beitrag zur Bandenverbreiterung [31].

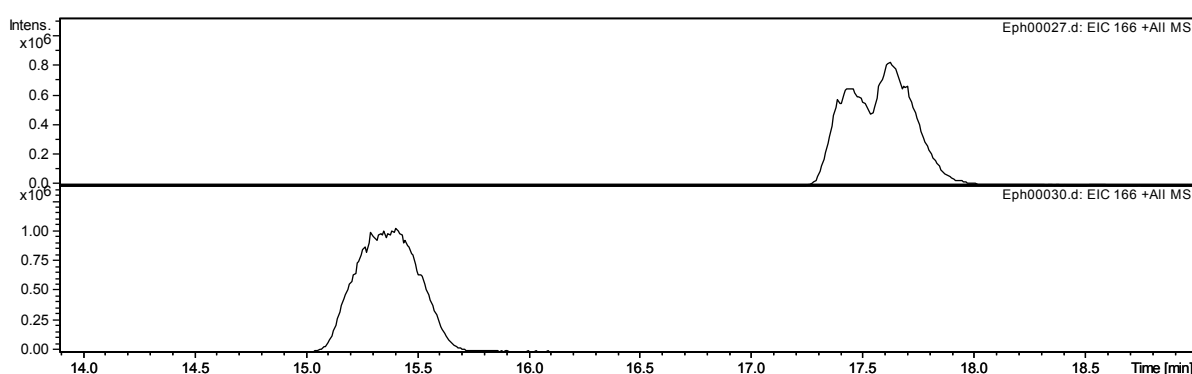


Abbildung 5.4: Massenspektren von Ephedrin und Pseudoephedrin bei einem Nebulizerdruck von 4 psi und 7 psi
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}$ C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

In der oberen Hälfte der Grafik ist die Messung bei einem Nebulizerdruck von 4 psi dargestellt und in der unteren Hälfte der Grafik die Messung bei einem Nebulizerdruck von 7 psi. Bei einem Druck von 4 psi sind Ephedrin und Pseudoephedrin noch angetrennt, bei einem Druck von 7 psi ist nur noch ein Signal zu erkennen.

Die Variation der Trockengastemperatur erfolgte zwischen 100 °C und 300 °C. Diese hat so gut wie keinen Einfluss auf Migrationszeit, Empfindlichkeit und Auflösung der Analyte. Lediglich die Halbwertsbreite der Peaks nimmt über 250 °C etwas zu, daher wurde eine Trockengastemperatur von 250 °C gewählt. Abbildung 5.5 zeigt die Peakhalbwertsbreite in Abhängigkeit der Temperatur des Trockengases wiederum am Beispiel von Amfetamin. Die Änderung der Trockengastemperatur wirkt sich ebenfalls ähnlich auf die Peakhalbwertsbreite der anderen Analyte aus.

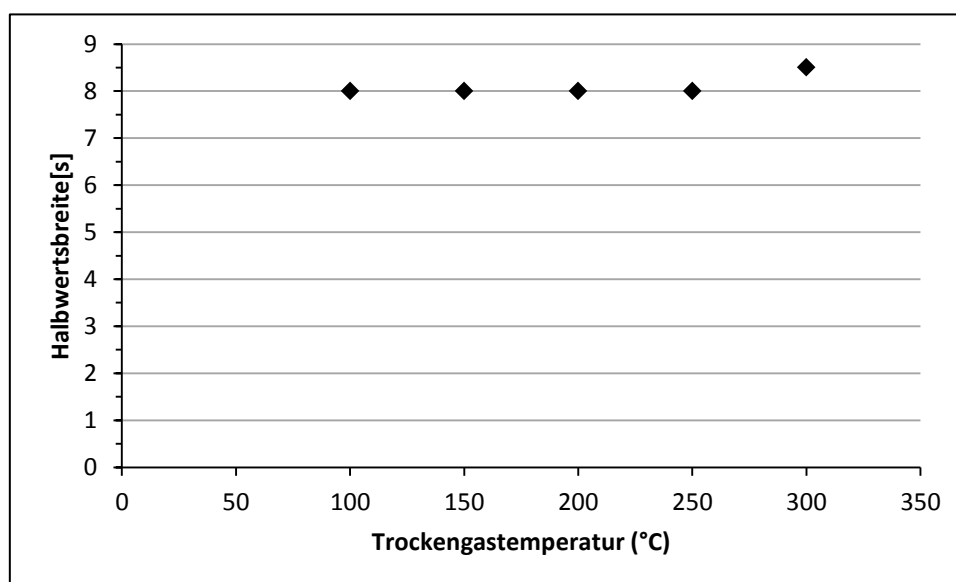


Abbildung 5.5: Auftragung der Peakhalbwertsbreite gegen die Trockengastemperatur für Amfetamin
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v);
Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengasflussrate: 4 L/min;
Targetmasse: 220 m/z

Die Trockengasflussrate wurde im Bereich von 4 bis 12 L/min variiert. Sie hat kaum Einfluss auf die Migrationszeit und auf die Auflösung der Analyte. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis und die Peakform werden jedoch mit zunehmender Flussrate schlechter. Eine Trockengasflussrate von 4 L/min stellte sich als optimal heraus. Abbildung 5.6 zeigt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in Abhängigkeit der Trockengasflussrate wiederum am Beispiel von Amfetamin. Die Änderung der Trockengasflussrate wirkt sich ebenfalls ähnlich auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis sowie die Peakform der anderen Analyte aus.

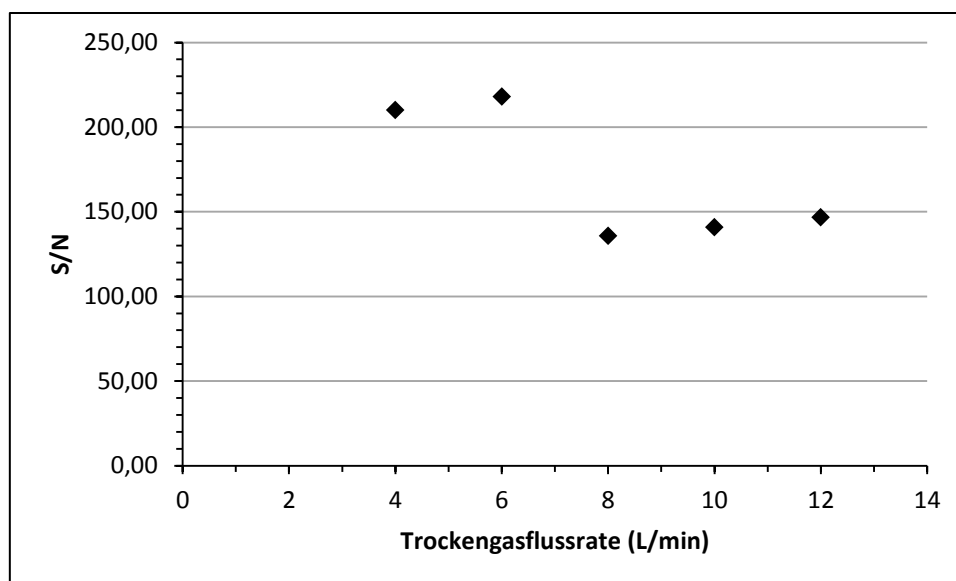


Abbildung 5.6: Auftragung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses gegen die Trockengasflussrate für Amfetamin
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v);
Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C;
Targetmasse: 220 m/z

Abbildung 5.7 verdeutlicht die Verschlechterung der Peakform bei zunehmender Trockengasflussrate am Beispiel von Amfetamin.

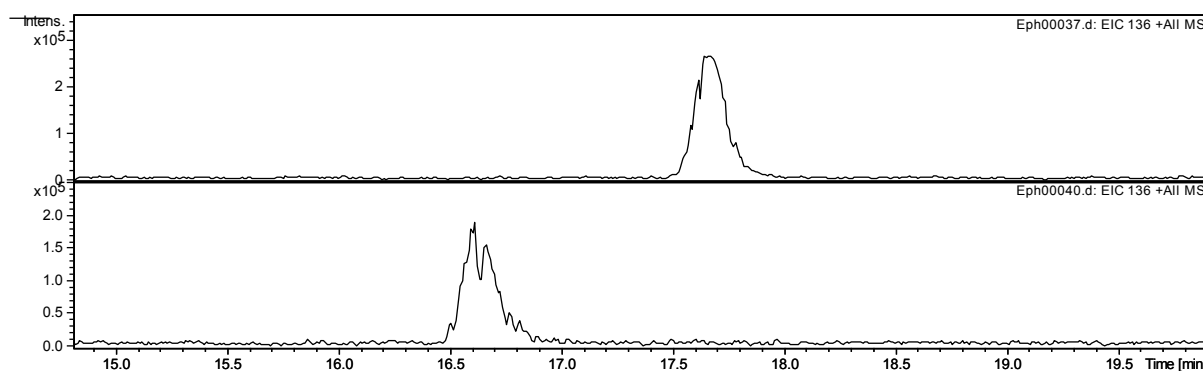


Abbildung 5.7: Massenspektren von Amfetamin bei einer Trockengasflussrate von 4 L/min und von 10 L/min
Trennbedingungen wie in Tabelle 5.1 aufgeführt
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v);
Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C;
Targetmasse: 220 m/z

Im oberen Teil der Abbildung ist die Messung bei einer Trockengasflussrate von 4 L/min dargestellt und im unteren Teil der Abbildung die Messung bei einer Trockengasflussrate von 10 L/min. Die Peakform wird mit zunehmender Flussrate deutlich schlechter.

Die verwendete Targetmasse hat kaum Einfluss auf Auflösung, Migrationszeit, Peakform und Empfindlichkeit. Sie wird folglich immer an den Massenbereich der zu analysierenden Substanzen angepasst. Hier wurde eine Targetmasse von 220 m/z gewählt, da die Analyte Molmassen zwischen 150 g/mol und 310 g/mol besitzen.

Folglich wird für alle weiteren Messungen das Stickstoffrockengas auf 250 °C erhitzt und mit 4 L/min zugeführt. Der Druck des Zerstäubergases N₂ beträgt 4 psi. Als Sheath Liquid wird ein Isopropanol/Wasser Gemisch (50/50, v/v) verwendet und mit einer Flussrate von 3 µL/min zugeführt. Die Targetmasse beträgt 220 m/z.

5.2.1.2 Optimierung der chiralen Trennung

Nach Optimierung der Massenspektrometereinstellungen folgt nun die Optimierung der chiralen Trennung auf der Kapillarelektrophoreseseite. Optimierbare Parameter sind hier die Kapillarlänge, die Temperatur, die Hochspannung und die Zusammensetzung des Trennpuffers. Die Kapillarlänge von 82 cm steht in diesem Fall fest, da aus apparativen Gründen die Nutzung einer kürzeren Kapillare nicht möglich ist und eine noch längere Kapillare im Hinblick auf die Analysendauer nicht praktikabel wäre. Es wurde ein Innendurchmesser der Kapillare von 50 µm verwendet, da die auf das Volumen bezogene Oberfläche stark mit dem Kapillarradius abnimmt. Dies ist vorteilhaft für die Trennung, da der Wärmeabtransport erleichtert wird [31]. Weiterhin wird die Bandenverbreiterung durch hydrodynamischen Fluss minimiert. Die Temperatur steht fest, da der größte Teil der Kapillare aus apparativen Gründen außerhalb des CE-Gerätes verläuft und somit nicht temperierbar ist. Die Temperatur des Messraumes wurde konstant auf 20 °C gehalten. Die Injektionsparameter wurden bereits in vorangegangenen Arbeiten optimiert [10]. Die Injektion erfolgte für 5s bei einem Druck von 3,45 kPa. Die Wahl des Trennpuffers ist sehr eingeschränkt, da er nur leichtflüchtige Komponenten enthalten darf. Salze wie zum Beispiel Phosphate, die häufig in klassischen für die Kapillarelektrophorese verwendeten Laufpuffern enthalten sind, würden das Massenspektrometer kontaminieren. Daher wurde Ameisensäure als Laufpuffer verwendet [54, 55]. Um die chirale Trennung der Analyte zu erreichen, wurden dem Laufpuffer Cyclodextrine als chirale Selektoren zugesetzt. Da es sich bei den Cyclodextrinen um nichtflüchtige Substanzen handelt, wurde die Konzentration derselben gering gehalten, um eine Kontamination des Massenspektrometers und eine zu extreme Ionensuppression bei der Bildung der Analytionen im Elektrospray zu vermeiden. Um trotzdem eine ausreichend hohe chirale Auflösung zu erreichen, wurde in Anlehnung an [54, 55] eine Mischung von neutralen und negativ geladenen Cyclodextrinen verwendet. Bei dem

neutralen Cyclodextrin handelte es sich um O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin (Substitutionsgrad 0,5-0,7) und bei dem negativ geladenen Cyclodextrin um Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin. Die Optimierung der Trennung im Hinblick auf Auflösung und Nachweisgrenze der Analyte durch Variation der Hochspannung und der Pufferzusammensetzung ist im Folgenden dargestellt. Für die Optimierung wurden alle Messungen bei einer Analytkonzentration von 25- μ mol/L durchgeführt. Der pH-Wert des Puffers liegt im sauren Bereich damit die Protonierung der Analyte an der Aminogruppe gewährleistet ist. Die unter diesen Bedingungen als Kationen vorliegenden Analyte wandern bei Anlegung einer positiven Spannung aufgrund ihrer elektrophoretischen Mobilität zur Kathode. Das neutrale Cyclodextrin besitzt keine eigene elektrophoretische Mobilität und wandert aufgrund dessen mit dem EOF zur Kathode. Das negativ geladene Cyclodextrin wandert aufgrund seiner elektrophoretischen Mobilität zur Anode. Durch Wechselwirkung der Analyte mit den neutralen und den negativ geladenen Cyclodextrinen wird deren Migrationszeit erhöht.

In Anlehnung an bereits veröffentlichte Verfahren [54, 55] wurde als Laufpuffer Ameisensäure in einer Konzentration von 1 mol/L verwendet. Bei geringerer Ameisensäurekonzentration wird die Auflösung etwas schlechter. Am Beispiel von Ephedrin und Pseudoephedrin beträgt die Auflösung bei einer Ameisensäurekonzentration von 100 mmol/L 0,59 und bei einer Ameisensäurekonzentration von 1 mol/L 1,18. Die Auflösungen wurden nach Gleichung 3.3 berechnet. Eine Zugabe von 2-Propanol zum Laufpuffer bewirkt eine Erhöhung der Migrationszeit, daher wurde darauf verzichtet.

Als chirale Selektoren wurden dem Laufpuffer, bestehend aus Ameisensäure in einer Konzentration von 1 mol/L verschiedene Cyclodextrine, zugesetzt [54, 55]. Die Konzentrationen wurden hierbei gering gehalten (10 mmol/L für das neutrale Cyclodextrin und 1 mmol/L für die negativ geladenen Cyclodextrine) um Kontamination des Massenspektrometers zu vermeiden und die Ionensuppression gering zu halten. Die Abbildungen 5.8 bis 5.10 zeigen die chirale Auflösung der Analyte bei Verwendung von O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin, Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin und Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin als chirale Selektoren.

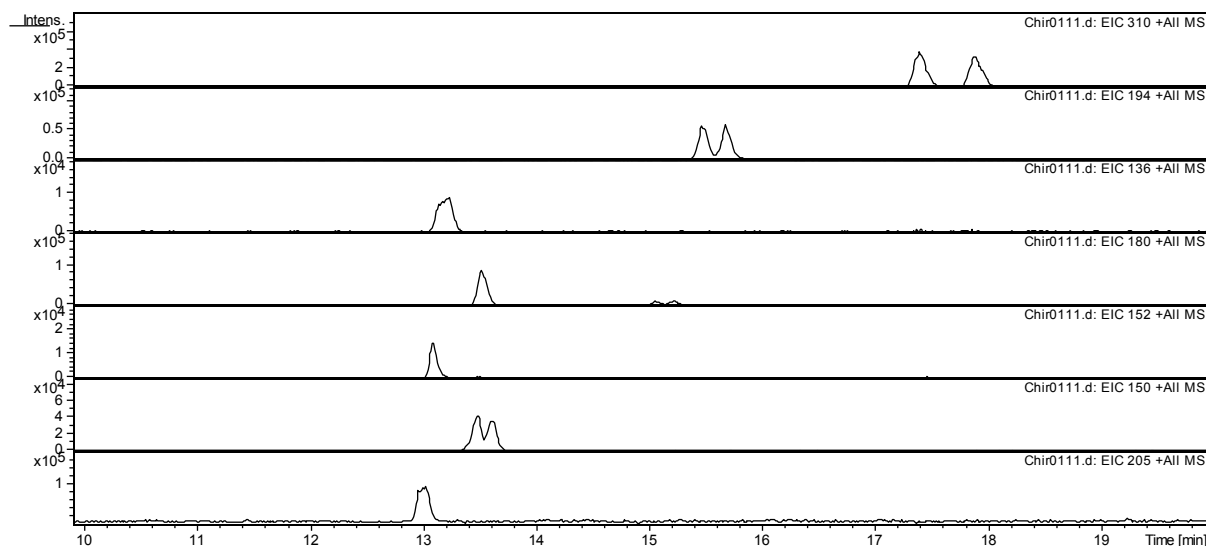


Abbildung 5.8: Auswirkung von O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 µm; Temperatur: 20 °C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 µmol/L

In Abbildung 5.8 ist die chirale Trennung von Methadon, MDMA, Amfetamin, N-Methylephedrin, Norephedrin, Synephrin, Metamfetamin und Tetramisol unter Verwendung von O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin als chiraler Selektor dargestellt. Die hier aufgeführte Reihenfolge der Analyte entspricht der in der Abbildung 5.8 dargestellten Reihenfolge von oben nach unten, wobei Synephrin und Metamfetamin beide auf der Massenspur 150 (zweite Reihe von unten) dargestellt sind. Synephrin migriert zuerst. Methadon und MDMA sind unter diesen Bedingungen chiral getrennt, der Rest der Analyte nicht.

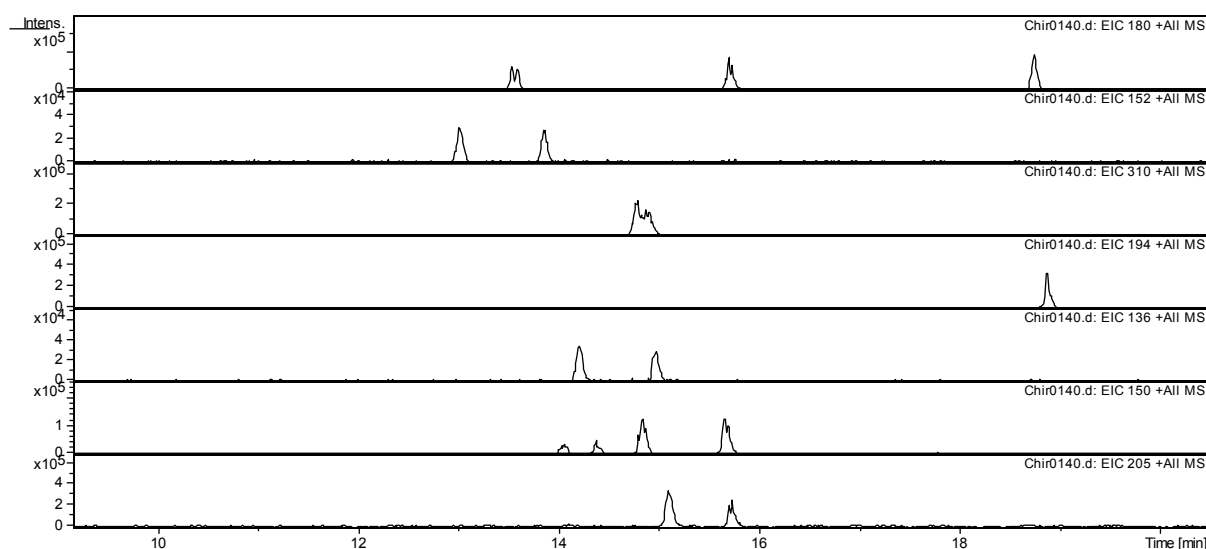


Abbildung 5.9: Auswirkung von Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 µm; Temperatur: 20 °C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 µmol/L

In Abbildung 5.9 ist die chirale Trennung von N-Methylephedrin, Norephedrin, Methadon, MDMA, Amfetamin, Synephrin, Metamfetamin und Tetramisol unter Verwendung von Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin als chiraler Selektor dargestellt. Die hier aufgeführte Reihenfolge der Analyte entspricht wiederum der in der Abbildung 5.9 dargestellten Reihenfolge von oben nach unten, wobei Synephrin und Metamfetamin auch hier beide auf der Massenspur 150 (zweite Reihe von unten) dargestellt sind. Synephrin migriert wiederum zuerst. Unter diesen Bedingungen sind nun Methadon und MDMA nicht chiral getrennt, der Rest der Analyte ist chiral getrennt.

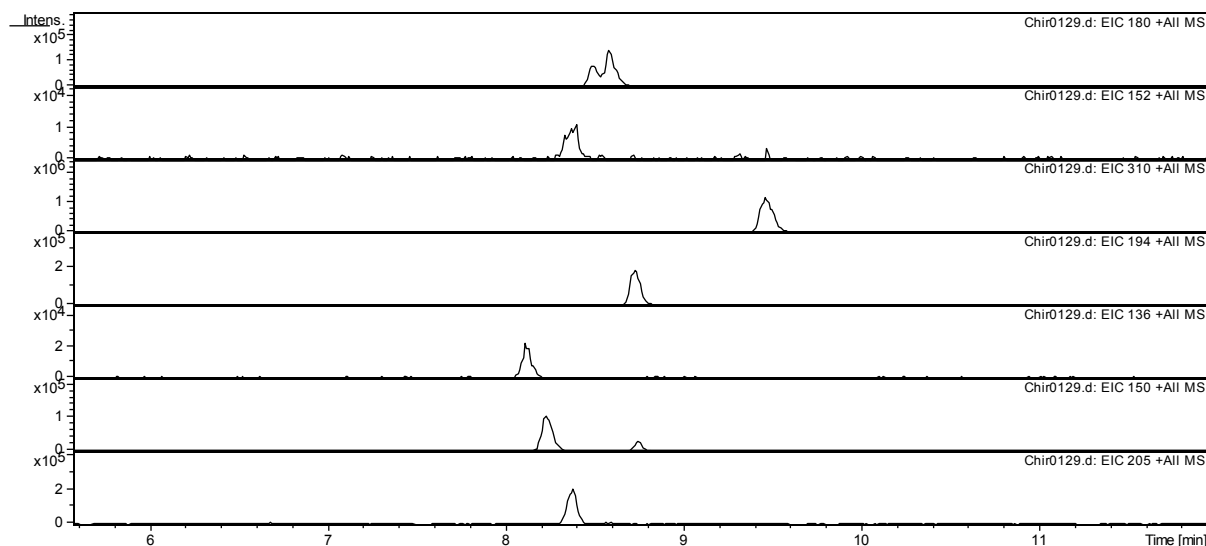


Abbildung 5.10: Auswirkung von Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin auf die chirale Auflösung der Analyte

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin;
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$

In Abbildung 5.10 ist die chirale Trennung von N-Methylephedrin, Norephedrin, Methadon, MDMA, Amfetamin, Synephrin, Metamfetamin und Tetramisol unter Verwendung von Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin als chiraler Selektor dargestellt. Die hier aufgeführte Reihenfolge der Analyte entspricht wiederum der in der Abbildung 5.10 dargestellten Reihenfolge von oben nach unten, wobei Synephrin und Metamfetamin auch hier beide auf der Massenspur 150 (zweite Reihe von unten) dargestellt sind. Synephrin migriert wiederum zuerst. Unter diesen Bedingungen sind keine der Analyte chiral aufgelöst, N-Methylephedrin ist lediglich angetrennt.

Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin ist als chiraler Selektor in diesem Fall bei der verwendeten Konzentration nicht geeignet, da keine chirale Trennung der Analyte erreicht werden kann. Die Konzentration von Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin wurde nicht erhöht, da eine Kontamination des Massenspektrometers vermieden werden soll. Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin eignet sich gut für die chirale Trennung von N-Methylephedrin, Norephedrin, Amfetamin, Synephrin, Metamfetamin und Tetramisol. MDMA und Methadon können nicht chiral aufgelöst werden. Bei Verwendung von O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin verhält es sich genau entgegengesetzt. Daher wurde dem Laufpuffer eine Mischung aus O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin und Heptakis-

(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin zugesetzt um die chirale Trennung aller Analyte in einem Lauf zu erzielen. Dabei stellte sich eine Konzentrationen von 1 mmol/L für Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin und eine Konzentration von 10 mmol/L für O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin als optimal heraus. Alle Analyte konnten unter diesen Bedingungen chiral getrennt werden. Die Konzentrationen der Cyclodextrine wurden so gering wie möglich gehalten, unterhalb der hier verwendeten Konzentrationen konnte noch keine chirale Trennung für alle Analyte erreicht werden.

Abschließend wurde die anzulegende Spannung unter Verwendung des zuvor optimierten Laufpuffers im Bereich von +20 kV bis +30 kV variiert. Die Auswirkungen daraus auf die chirale Auflösung sowie die Migrationszeit sind wiederum am Beispiel von Amfetamin in den Abbildungen 5.11 und 5.12 dargestellt. Die Auflösung wurde nach Gleichung 3.3 berechnet. Der Einfluss der Spannung auf die chirale Auflösung sowie die Migrationszeit der anderen Analyte ist ähnlich.

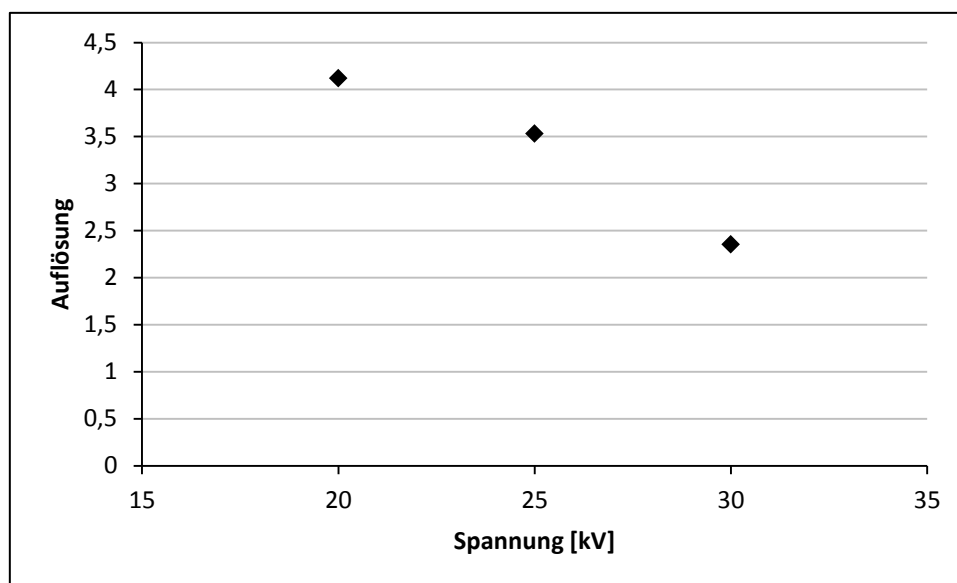


Abbildung 5.11: Chirale Auflösung von Amfetamin bei Variation der Hochspannung

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μ m; Temperatur: 20 °C; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 μ mol/L

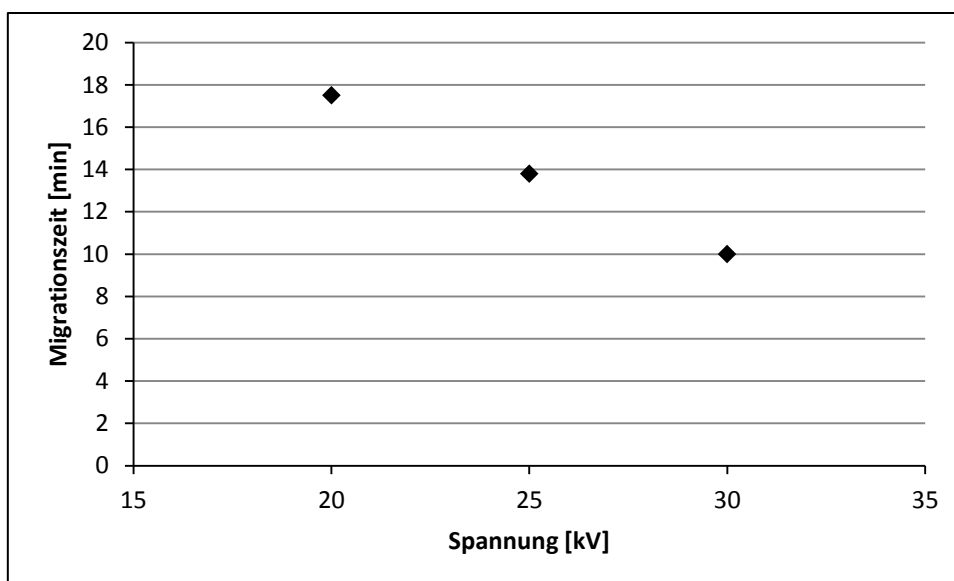


Abbildung 5.12: Migrationszeit von Amfetamin bei Variation der Hochspannung

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin; *Massenspektrometereinstellungen:* Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$

Mit zunehmender Spannung verkürzt sich aufgrund der höheren Feldstärke die Analysendauer, die chirale Auflösung nimmt jedoch ebenfalls ab. Als Kompromiss im Hinblick auf kurze Analysendauer und hohe chirale Auflösung wurde eine Spannung von +25 kV für alle weiteren Messungen verwendet.

In Abbildung 5.13 ist nun die optimierte Trennung für die ausgewählten Analyte dargestellt.

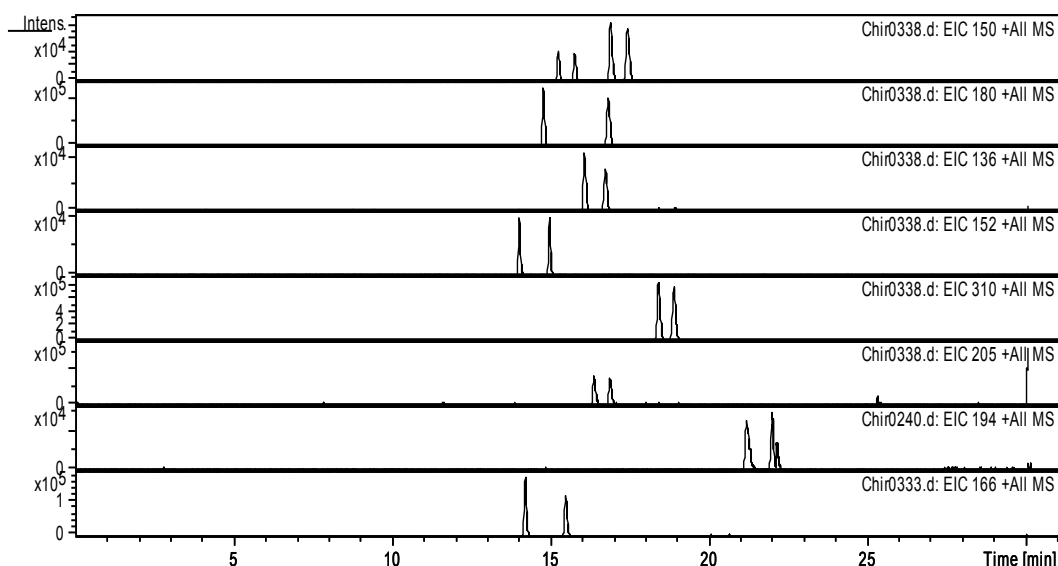


Abbildung 5.13: Chirale Basislinientrennung der Modellanalyte
[eigene Abbildung aus [57]]

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μ m; Temperatur: 20 °C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z; Analytkonzentration: 25 μ mol/L;

Analytreihenfolge von oben nach unten: (\pm)-Synephrin, (\pm)-Metamfetamin (beide auf der Massenspur 150), (\pm)-Methylephedrin, (\pm)-Amfetamin, (\pm)-Norephedrin, (\pm)-Methadon, (\pm)-Tetramisol, (\pm)-MDMA, (\pm)-Ephedrin

Es konnte für alle Substanzen eine Basislinientrennung innerhalb einer Analysenzeit von 25 Minuten bei 20 °C und einer Hochspannung von +25 kV mit einem Stromfluss von 40 μ A erreicht werden. Der verwendete Laufpuffer besteht nun aus 1 M Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin und 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin mit einem pH-Wert von 2,1. Als interner Standard wurde Benzylamin verwendet. Die (–)-Enantiomere der Analyte haben immer eine geringere Migrationszeit als die (+)-Enantiomere.

Die chiralen Auflösungen für die Analyte sind im Vergleich zu den Auflösungen unter Verwendung einer bereits in früheren Arbeiten entwickelten chiralen CE Methode mit UV Detektion [10] geringer, die Nachweisgrenzen sind jedoch besser und die sichere Identifizierung ist durch die massenspektrometrische Detektion gewährleistet. Dies wird im Folgenden am Beispiel von Tetramisol aufgezeigt. Die verwendete chirale CE-Methode ohne massenspektrometrische Detektion ist in Kapitel 7 (Abschnitt 7.1.2) näher beschrieben. Die Beschreibung des CE-Gerätes befindet sich im Anhang (Abschnitt 12.1.3). Abbildung 5.14

zeigt die chirale Trennung von Tetramisol ohne massenspektrometrische Detektion, Abbildung 5.15 zeigt die chirale Trennung von Tetramisol mit massenspektrometrischer Detektion.

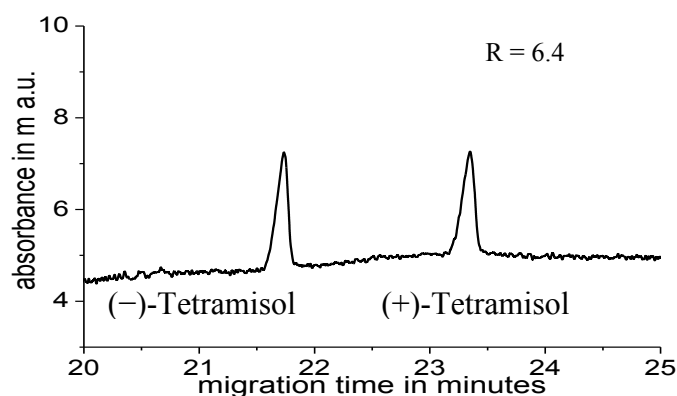


Abbildung 5.14: Electropherogramm CE-DAD-Messung für Tetramisol [eigene Abbildung aus [57]]
Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 60/67 cm, Innendurchmesser: 50 μ m; Temperatur: 20 $^{\circ}$ C; Hochspannung: -15 kV; Trennpuffer: Phosphatpuffer (25 mmol/L H_3PO_4 und 25 mmol/L KH_2PO_4) + 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-Cyclodextrin, pH 2,2; Detektion: UV-Detektion bei 214 nm und 2 Hz

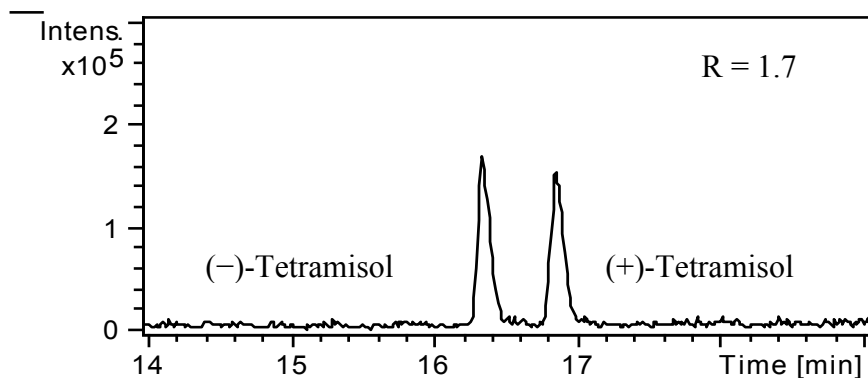


Abbildung 5.15: Electropherogramm CE-ESI-MS-Messung für Tetramisol [eigene Abbildung aus [57]]
Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μ m; Temperatur: 20 $^{\circ}$ C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin pH 2,1;
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}$ C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

In Abbildung 5.14 bei der chiralen Trennung von Tetramisol ohne massenspektrometrische Detektion beträgt die chirale Auflösung 6,4. In Abbildung 5.15 bei der chiralen Trennung mit massenspektrometrischer Detektion nur 1,7. Der Vorteil besteht jedoch in der Möglichkeit der

sicheren Identifizierung und in der höheren Empfindlichkeit. Die 3-Sigma-Nachweisgrenze für Tetramisol beträgt bei massenspektrometrischer Detektion 900 nmol/L, wohingegen sie bei UV-Detektion 5,7 µmol/L beträgt.

Im kommenden Abschnitt sind für die chirale CE-ESI-MS-Methode die Auflösungen und Nachweisgrenzen für alle Analyte aufgeführt sowie die Reproduzierbarkeiten und der lineare Arbeitsbereich dargestellt.

5.2.2 Validierung

Die Validierung der in den vorangegangenen Abschnitten entwickelten CE-ESI-MS-Methode erfolgte bei den dort ermittelten optimalen Messbedingungen. Diese sind in Tabelle 5.3 aufgeführt.

Tabelle 5.3: Optimierte Trennbedingungen und Massenspektrometereinstellungen

Parameter	Wert
Trennbedingungen	
Injektion	5 s bei 3,45 kPa
Kapillare	Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 µm
Temperatur	20 °C
Hochspannung	+ 25 kV
Trennpuffer	1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin
Massenspektrometereinstellungen	
Hilfsflusszusammensetzung	2-Propanol/Wasser (50/50 v/v)
Hilfsflussrate	3 µL/min
Nebulizerdruck	4 psi
Trockengastemperatur	250 °C
Trockengasflussrate	4 L/min
Targetmasse	220 m/z

Zunächst wurde die 3-Sigma-Nachweisgrenze bestimmt. Zur Ermittlung wurde die Standardabweichung des Basisliniensignals in einem peakfreien Bereich von drei Minuten

bestimmt. Die 3-Sigma-Nachweisgrenze ist bei einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von drei beziehungsweise dem dreifachen Wert der Standardabweichung des ungestörten Basisliniensignals erreicht. Die Probenaufgabe erfolgte für 5 s (optimierte Zeit) bei einem Druck von 3,45 kPa. Die Analytlösungen wurden hergestellt, indem die in Abschnitt 5.1.1 und 5.1.2 beschriebenen Stammlösungen (5 mmol/L) 1:2000 beziehungsweise für Tetramisol und Ephedrin 1:1000 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt wurden. Die ermittelten Nachweisgrenzen der Analyte und des internen Standards sind in Tabelle 5.4 aufgeführt. Zur Verdeutlichung des Effektes der Ionensuppression sind auch die Nachweisgrenzen für alle Analyte bei nichtchiraler Trennung in Tabelle 5.5 aufgeführt. Als Laufpuffer wurde in diesem Fall Ameisensäure in einer Konzentration von 1 mol/L ohne Zusatz von Cyclodextrinen verwendet. Alle anderen Messbedingungen entsprechen denen in Tabelle 5.3. Die Analytkonzentrationen betragen bei der nichtchiralen Trennung jeweils 5 µmol/L.

Tabelle 5.4: 3-Sigma-Nachweisgrenzen für die Analyte bei chiraler Trennung
(Messbedingungen siehe Tabelle 5.3)

Analyt	Anlyt- konzentration [μmol/L]	S/N- Verhältnis	3-Sigma- Nachweisgrenze [μmol/L]	3-Sigma- Nachweisgrenze [ng/ml]
(-)-Norephedrin	2,5	9,7	0,8	117
(+)-Norephedrin	2,5	10,6	0,7	107
(-)-Synephrin	2,5	12,8	0,6	87
(+)-Synephrin	2,5	12,2	0,6	92
(-)-Metamfetamin	2,5	30,1	0,2	37
(+)-Metamfetamin	2,5	37,1	0,2	30
(-)-Methadon	2,5	141,2	0,1	16
(+)-Methadon	2,5	133,2	0,1	17
(-)-Ephedrin	5	53,4	0,3	46
(+)-Ephedrin	5	42,8	0,4	58
(-)-Amfetamin	2,5	9,5	0,8	107
(+)-Amfetamin	2,5	7,6	1,0	133
Benzylamin (ISTD)	2,5	9,7	0,8	83
(-)-Tetramisol	5	16,6	0,9	184
(+)-Tetramisol	5	16,8	0,9	182
(-)-N-Methylephedrin	2,5	14	0,5	96
(+)-N-Methylephedrin	2,5	15,2	0,5	88

Tabelle 5.5: 3-Sigma-Nachweisgrenzen der Analyte für die nichtchirale Trennung

Analyt	Anlyt-konzentration [μmol/L]	S/N Verhältnis	3-Sigma- Nachweisgrenze [μmol/L] ohne Cyclodextrin	3-Sigma- Nachweisgrenze [ng/ml] ohne Cyclodextrin
Norephedrin	5	88,8	0,2	25
Synephrin	5	397,4	0,04	6
Metamfetamin	5	139,7	0,1	16
Methadon	5	1758,4	0,01	3
Ephedrin	5	162,1	0,1	15
Amfetamin	5	66,4	0,2	31
Bezylamin (ISTD)	5	40,8	0,4	39
Tetramisol	5	24,2	0,6	126
N-Methylephedrin	5	83,1	0,2	32

Die Nachweisgrenzen für alle Analyte liegen im Bereich von 0,1 bis 1,0 μmol/L beziehungsweise von 16 bis 184 ng/ml. Die Nachweisgrenzen der Analyte sind ungefähr um den Faktor 5 bis 10 niedriger, wenn dem Laufpuffer keine Cyclodextrine zugegeben werden. Ein Grund dafür liegt in der Ionensuppression, das heißt die Cyclodextrinmoleküle konkurrieren mit den Analytmolekülen bei der Ionenbildung im Elektrospray und unterdrücken somit die Ionenbildung der Analytmoleküle. Die Nachweisgrenzen sind mit Daten aus der Literatur vergleichbar [56, 54].

Die chirale Auflösung für alle Analyte wurde nach Gleichung 3.3 (Grundlagen) berechnet und ist in Tabelle 5.6 aufgeführt. Die Konzentration der Analyte betrug jeweils 25 μmol/L.

Tabelle 5.6: Chirale Auflösung der Analyte (Messbedingungen siehe Tabelle 5.3)

Analyt	Auflösung
(±)-Norephedrin	3,5
(±)-Synephrin	2,9
(±)-Metamfetamin	2,0
(±)-Methadon	2,4
(±)-Ephedrin	2,9
(±)-Amfetamin	1,7
(±)-Tetramisol	1,8
(±)-N-Methylephedrin	4,7

Für alle Analyte wurden chirale Auflösungen im Bereich von 1,7 bis 4,7 erreicht. Da die Cyclodextrinkonzentrationen im Laufpuffer gering gehalten wurden um die Ionensuppression gering zu halten und eine Kontamination des Massenspektrometers zu vermeiden, sind die chiralen Auflösungen der Analyte im Vergleich zu den chiralen Auflösungen der Analyte, die bei Verwendung einer CE-Methode zur chiralen Trennung ohne massenspektrometrische Detektion erreicht werden, geringer [10], sie ermöglichen jedoch trotzdem die eindeutige Identifizierung.

Zur statistischen Beurteilung der Reproduzierbarkeit des CE-ESI-MS-Verfahrens wurden sechs Messungen unter gleichen Bedingungen an einem Tag durchgeführt, um die Wiederholpräzision der Migrationszeiten und Peakflächen innerhalb eines Tages bewerten zu können. Zusätzlich wurden sechs Messungen unter den gleichen Bedingungen an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, um die Wiederholpräzision der Migrationszeiten und Peakflächen über einen größeren Zeitraum beurteilen zu können. Es wurde jeweils die relative Standardabweichung ermittelt. Tabelle 5.7 zeigt die relative Standardabweichung (RSD) der Migrationszeit innerhalb eines Tages und an verschiedenen Tagen. Auch ist die relative Standardabweichung der relativen Migrationszeit, bezogen auf den internen Standard Benzylamin, innerhalb eines Tages und an verschiedenen Tagen dargestellt. Die Analytkonzentration betrug jeweils 25 µmol/L.

Tabelle 5.7: RSD für die Migrationszeit der Analyte (Messbedingungen siehe Tabelle 5.3)

Analyt	RSD (ein Tag) [%]	RSD (ein Tag, relative Migrationszeit) [%]	RSD (mehrere Tage) [%]	Relativer RSD (mehrere Tage, relative Migrationszeit) [%]
(-)-Norephedrin	1,24	0,31	4,63	7,47
(+)-Norephedrin	1,21	0,43	4,15	6,57
(-)-Synephrin	1,18	0,42	4,61	7,54
(+)-Synephrin	1,24	0,32	4,82	7,83
(-)-Metamfetamin	1,35	0,53	5,10	8,12
(+)-Metamfetamin	1,27	0,40	4,48	7,24
(-)-Methadon	1,59	0,71	5,23	5,98
(+)-Methadon	1,66	0,74	5,48	6,02
(-)-Ephedrin	1,23	0,45	4,66	7,37
(+)-Ephedrin	1,36	0,44	3,81	4,74
(-)-Amfetamin	1,14	0,40	5,56	8,77
(+)-Amfetamin	1,20	0,41	4,81	7,62
Bezylamin (ISTD)	1,02	0,00	6,08	0,00
(-)-Tetramisol	1,32	0,41	3,54	4,17
(+)-Tetramisol	1,01	0,19	3,96	3,52
(-)-N-Methylephedrin	1,23	0,44	4,37	6,71
(+)-N-Methylephedrin	1,29	0,38	4,68	2,72

Für die Messungen innerhalb eines Tages ist deutlich der Effekt des internen Standards zu erkennen. Die relativen Migrationszeiten haben eine bessere Wiederholpräzision als die Migrationszeiten, die nicht auf den internen Standard bezogen sind. Der Grund dafür liegt darin, dass Schwankungen des EOF sich genauso auf den internen Standard auswirken wie auf die Analyte. Die relativen Standardabweichungen innerhalb eines Tages sind deutlich geringer als die relativen Standardabweichungen über einen größeren Zeitraum. Die relativen Standardabweichungen für die Migrationszeit über einen größeren Zeitraum lassen sich nicht durch die Verwendung relativer Migrationszeiten verbessern. Ein Grund dafür könnten Temperaturschwankungen innerhalb des Messraumes sein, da der größte Teil der Kapillare des CE-ESI-MS-Gerätes aus apparativen Gründen außerhalb des Gerätes verläuft und der Raum über eine Klimaanlage nur ungefähr auf 20 °C temperiert werden kann. Die Viskosität des Laufpuffers und somit die Mobilität der Cyclodextrine ist jedoch temperaturabhängig und

daher von Tag zu Tag nicht ganz konstant. Temperaturschwankungen wirken sich somit stärker aus, wenn Cyclodextrine dem Laufpuffer zugesetzt werden. Wenn diese Vermutung richtig ist, sollte sich die relative Standardabweichung der relativen Migrationszeit im Vergleich zu der Standardabweichung der Migrationszeit bei Messungen über einen größeren Zeitraum deutlich verbessern, wenn keine Cyclodextrine dem Laufpuffer zugesetzt werden. Dies ist auch tatsächlich der Fall. Die relativen Standardabweichungen der Migrationszeiten betragen bei Verwendung von reiner Ameisensäure (1 mol/L) als Laufpuffer durchschnittlich 1,87 % und die relativen Standardabweichungen unter Verwendung der relativen Migrationszeiten nur noch durchschnittlich 0,37 %

Tabelle 5.8 zeigt die relative Standardabweichung der Peakfläche innerhalb eines Tages und an verschiedenen Tagen. Auch ist die relative Standardabweichung der relativen Peakfläche, bezogen auf den internen Standard Benzylamin, innerhalb eines Tages und an verschiedenen Tagen dargestellt.

Tabelle 5.8: RSD für die Peakfläche der Analyte (Messbedingungen siehe Tabelle 5.3)

Analyt	RSD (ein Tag) [%]	RSD (ein Tag, relative Fläche) [%]	RSD (mehrere Tage) [%]	RSD (mehrere Tage, relative Fläche) [%]
(-)-Norephedrin	16,83	18,75	14,80	21,09
(+)-Norephedrin	22,23	19,39	26,82	24,16
(-)-Synephrin	14,83	12,30	28,58	18,35
(+)-Synephrin	22,87	20,25	14,96	18,65
(-)-Metamfetamin	4,17	8,27	15,83	24,35
(+)-Metamfetamin	11,25	11,72	10,99	20,13
(-)-Methadon	8,12	13,99	10,79	27,34
(+)-Methadon	12,03	17,97	11,01	25,42
(-)-Ephedrin	14,81	15,14	17,57	19,47
(+)-Ephedrin	11,62	10,10	10,95	27,81
(-)-Amfetamin	10,71	11,90	16,03	27,92
(+)-Amfetamin	8,99	12,69	28,80	44,62
Bezylamin (ISTD)	9,57	0,00	21,12	0,00
(-)-Tetramisol	6,52	6,90	13,25	29,96
(+)-Tetramisol	16,10	18,23	23,56	34,88
(-)-N-Methylephedrin	15,74	13,57	12,72	12,55
(+)-N-Methylephedrin	6,08	15,28	17,11	22,36

Die Verwendung der relativen Peakflächen hat keine deutliche Verbesserung der Reproduzierbarkeit zur Folge. Die Wiederholpräzision der relativen Peakflächen ist nur vereinzelt besser als die der Peakflächen, die nicht auf den internen Standard bezogen sind. Durch Normierung der Peakfläche auf die Fläche des internen Standards werden nur Fehler, wie zum Beispiel Probeaufgabeschwankungen ausgeglichen, die sich auf alle Analyte gleich auswirken. Effekte, die sich nicht auf alle Analyte gleich auswirken, wie zum Beispiel nichtreproduzierbare Ionenbildung im Elektrospray, und auch nichtreproduzierbare Ionensuppression durch die Cyclodextrine im Laufpuffer, werden nicht ausgeglichen. Die Verwendung von relativen Peakflächen kann dann sogar aufgrund der Fehlerfortpflanzung zu einer Verschlechterung der Reproduzierbarkeit führen. Die relativen Standardabweichungen der Peakflächen sind innerhalb eines Tages vergleichbar mit den relativen Standardabweichungen der Peakflächen über einen größeren Zeitraum.

Abschließend wurde der lineare Zusammenhang zwischen Peakfläche und Konzentration der Analyte überprüft. Dafür wurden Proben mit einer Analytkonzentration von 10 µmol/L bis 500 µmol/L einfach gemessen.

Die Konzentration wurde für jeden Analyt gegen die Peakfläche aufgetragen und das Quadrat des Korrelationskoeffizienten (Bestimmtheitsmaß) sowie der Korrelationskoeffizient r berechnet. Zur Überprüfung der Linearität wurde ein Linearitätstest nach Mandel durchgeführt. Der Mandel-Prüfwert für jeden Analyt sowie den internen Standard wurde nach Gleichung 3.6 berechnet. Die Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Mandelprüfwerte sind in der Tabelle 5.9 aufgeführt.

Tabelle 5.9: Bestimmtheitsmaße der Auftragung der Peakflächen gegen die Konzentration der Analyte
(Messbedingungen siehe Tabelle 5.3)

Analyt	R ²	r	Mandel- Prüfwert
(-)-Norephedrin	0,9525	0,9760	0,8273
(+)-Norephedrin	0,9654	0,9825	0,3444
(-)-Synephrin	0,9843	0,9921	0,8806
(+)-Synephrin	0,9906	0,9953	0,1257
(-)-Metamfetamin	0,9852	0,9926	0,1708
(+)-Metamfetamin	0,9880	0,9940	0,0195
(-)-Methadon	0,9864	0,9932	0,0058
(+)-Methadon	0,9868	0,9934	0,0034
(-)-Ephedrin	0,9883	0,9941	1,6010
(+)-Ephedrin	0,9951	0,9975	1,7266
(-)-Amfetamin	0,9891	0,9945	0,4952
(+)-Amfetamin	0,9869	0,9934	1,3774
Bezylamin (ISTD)	0,9910	0,9955	0,0233
(-)-Tetramisol	0,9883	0,9941	0,2304
(+)-Tetramisol	0,9880	0,9940	0,0304
(-)-N-Methylephedrin	0,9834	0,9917	0,1573
(+)-N-Methylephedrin	0,9791	0,9895	0,0587

Die relativ niedrigen Bestimmtheitsmaße beziehungsweise Korrelationskoeffizienten können durch die nichtreproduzierbare Ionenbildung im Elektrospray erklärt werden. Die zugehörigen Kalibriergeraden sind im Anhang (Abschnitt 12.7) abgebildet.

Es besteht ein linearer Zusammenhang über zwei Dekaden der Konzentration zwischen der Peakfläche und der Konzentration der Analyte sowie des internen Standards, da alle Mandel-Prüfwerte kleiner sind als der Tabellenwert aus der F-Tabelle für $f_1 = 1$, $f_2 = N - 3 = 8$ und $P = 99\%$. Dieser beträgt 11,26.

5.2.3 Identifizierung chiraler Rauschgifte, Zusatzstoffe und Verunreinigungen

Die in Abschnitt 5.2.1 entwickelte und optimierte CE-ESI-MS-Methode wurde für die Analyse einiger forensisch interessanter Proben eingesetzt. Diese wurden vom Bundeskriminalamt Wiesbaden und dem rechtsmedizinischen Institut der Universität

Heidelberg zur Verfügung gestellt. Die genauere Probenbeschreibung befindet sich im Anhang (Abschnitt 12.4). Im Folgenden sind die Ergebnisse der Untersuchung dieser Proben aufgeführt. Die Unverzichtbarkeit der massenspektrometrischen Detektion wird hierbei aufgezeigt.

5.2.3.1 Metamfetamin

Das erste Beispiel hierfür ist die Untersuchung einer illegalen Metamfetaminzubereitung. Diese wurde auch mittels Kapillarelektrophorese mit UV Detektion analysiert [27]. Das entsprechende Elektropherogramm ist in Abbildung 5.16 dargestellt. Die Probe wurde vom Bundeskriminalamt Wiesbaden zur Verfügung gestellt.

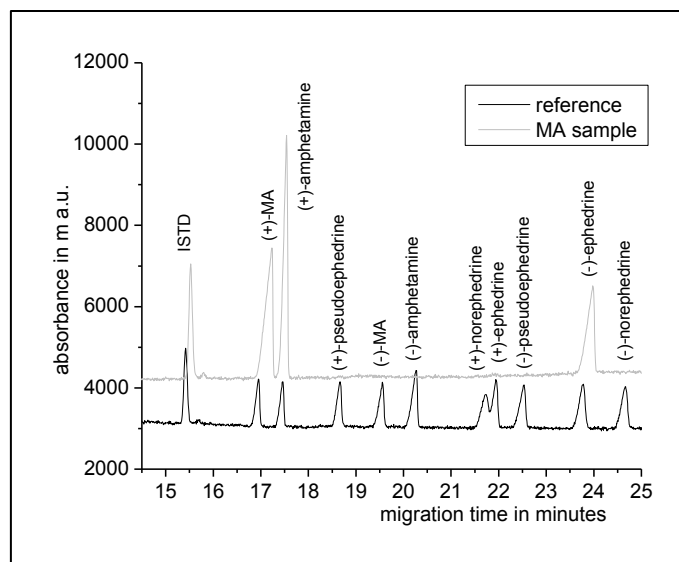


Abbildung 5.16: Analyse einer illegalen Metamfetaminzubereitung unter Verwendung von Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion (mögliche Missinterpretation von Procain als (+)-Amfetamin) [eigene Abbildung aus [57]]

Trennbedingungen: Injektion: 3s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 60/67 cm, Innendurchmesser: 50 µm; Temperatur: 20 °C; Hochspannung: -15 kV; Trennpuffer: Phosphatpuffer (25 mmol/L H₃PO₄ und 25 mmol/L KH₂PO₄) + 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-Cyclodextrin, pH 2,2; Detektion: UV-Detektion bei 214 nm und 2 Hz

Laut der Ergebnisse in Abbildung 5.16 enthält die Probe (+)-Metamfetamin, (-)-Ephedrin und scheinbar (+)-Amfetamin. Schaut man sich im Vergleich dazu jedoch die Ergebnisse der Untersuchung derselben Probe mit Kapillarelektrophorese und massenspektrometrischer Detektion an, so beweisen diese die Abwesenheit von (+)-Amfetamin in der Probe. Das als (+)-Amfetamin missinterpretierte Signal stammt in Wahrheit von dem Lokalanästhetikum Procain. Dies wurde mit Hilfe der massenspektrometrischen Detektion durch MS/MS-

Experimente bewiesen. Das Elektropherogramm der CE-ESI-MS-Messung sowie das MS/MS-Spektrum von Procain sind in Abbildung 5.17 und Abbildung 5.18 dargestellt.

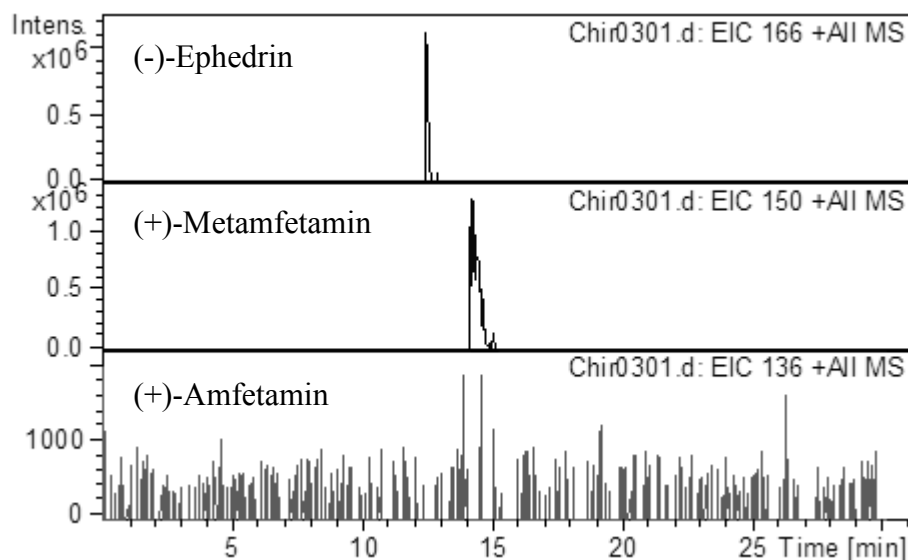


Abbildung 5.17: Chirale Analyse einer illegalen Metamfetaminzubereitung mittels CE-ESI-MS [eigene Abbildung aus [57]]
Oben: Massenspur 166 (Ephedrin); Mitte: Massenspur 150 (Metamfetamin); Unten: Massenspur 136 (Amfetamin)
Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin;
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

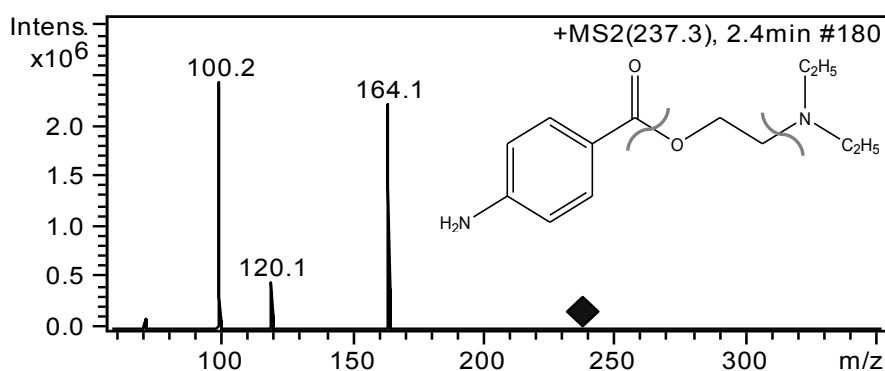


Abbildung 5.18: MS/MS-Spektrum von Procain (Identifizierung) [eigene Abbildung aus [57]]
Messbedingungen wie in Abbildung 5.17

Es ist deutlich in Abbildung 5.17 zu erkennen, dass die Probe kein (+)-Amfetamin (Massenspur 136) enthält. Die Massenspuren von (+)-Metamfetamin und (-)-Ephedrin weisen hingegen deutliche Signale auf. Abbildung 5.18 zeigt das MS/MS-Spektrum der als

(+)-Amfetamin missinterpretierten Substanz. Es handelt sich hierbei um Procain. Dies ist eindeutig durch das MS/MS-Spektrum bewiesen. Die Strukturformel von Procain ist ebenfalls in Abbildung 5.18 dargestellt. Die im Massenspektrometer entstehenden Fragmente sind dort aufgezeigt. Die Masse 237.3-m/z entspricht dem gesamten Molekül, die Masse 120.1-m/z korreliert mit dem linken Fragment und die Masse 164.1-m/z entspricht den beiden linken Fragmenten.

5.2.3.2 Methadon

Eine weitere Anwendung für die entwickelte enantioselektive CE-ESI-MS-Methode ist die Untersuchung einer von der rechtsmedizinischen Abteilung der Universität Heidelberg zur Verfügung gestellten Methadonblutprobe, welche mit Methadon-d₉ angereichert wurde. Es sollte festgestellt werden, ob die Probe racemisches Methadon oder Polamidon[®] (Levomethadon) enthält. Die enantioselektive CE-ESI-MS-Analyse zeigt, dass die Probe racemisches Methadon enthält. Die Elektropherogramme sind in Abbildung 5.19 dargestellt.

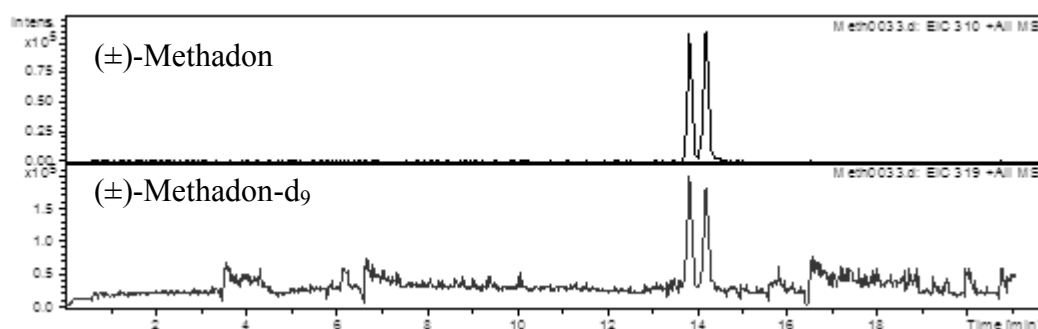


Abbildung 5.19: CE-ESI-MS-Analyse einer Blutprobe angereichert mit Methadon-d₉
[eigene Abbildung aus [57]]
Messbedingungen wie in Abbildung 5.17

Wie deutlich zu erkennen ist, komigrieren das in der Blutprobe enthaltene Methadon und das zugesetzte Methadon-d₉. Diese Komigration findet ebenfalls statt, wenn die Probe mit Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion untersucht wird. Das isotopenmarkierte Methadon kann folglich nur mit Hilfe der Massenspektrometrie von dem unmarkierten Methadon unterschieden werden.

5.2.3.3 Kokain

Das letzte Anwendungsbeispiel besteht in der Identifizierung eines ungewöhnlichen Zusatzstoffes in einer illegalen, sichergestellten Kokainprobe. Diese wurde vom

Bundeskriminalamt Wiesbaden zur Verfügung gestellt. Bei diesem Zusatzstoff handelt es sich um Levamisol, das (–)-Enantiomer von Tetramisol, welches in der Medizin sowohl bei Menschen als auch bei Tieren gegen Wurmbefall eingesetzt wird [58], während die Behandlung mit racemischem Tetramisol auf die Tiermedizin beschränkt ist. Abbildung 5.20 zeigt das Elektropherogramm der Kokainprobe und das der Tetramisolreferenzsubstanz. Abbildung 5.21 zeigt das MS/MS-Spektrum von Levamisol.

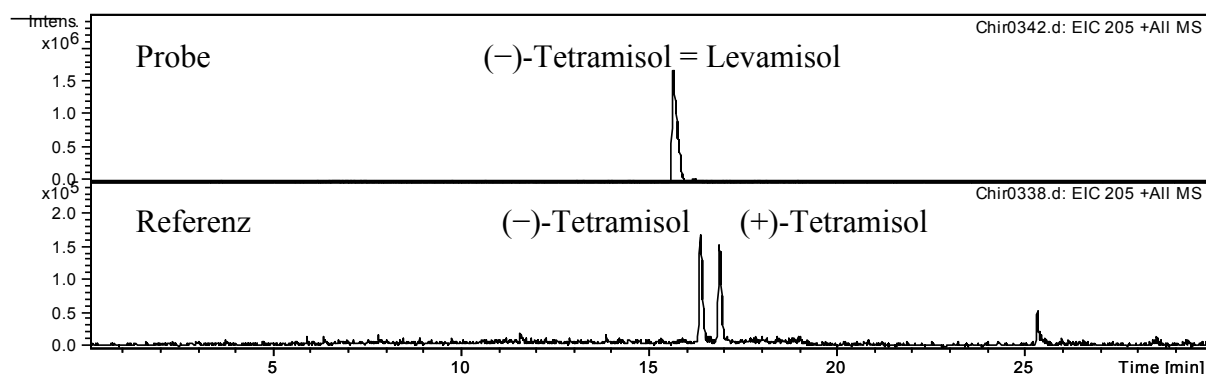


Abbildung 5.20: Chirale CE-ESI-MS-Analyse der levamisolhaltigen Kokainprobe [eigene Abbildung aus [57]]
Messbedingungen wie in Abbildung 5.17

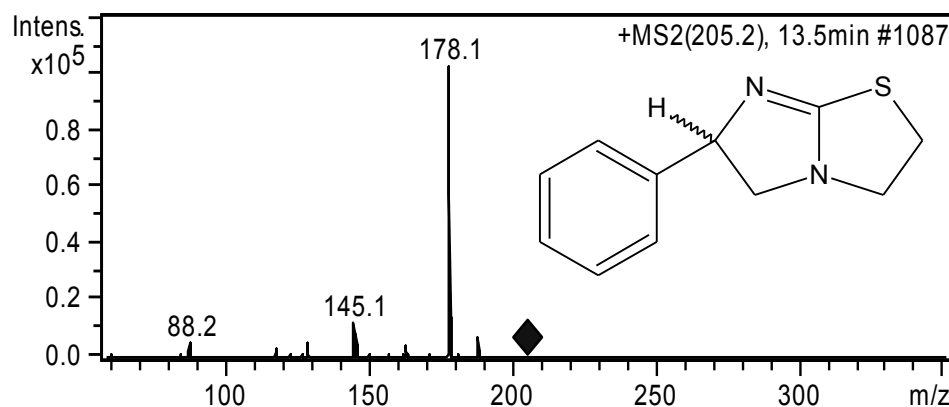


Abbildung 5.21: MS/MS-Spektrum von Levamisol [eigene Abbildung aus [57]]
Messbedingungen wie in Abbildung 5.17

In Abbildung 5.20 ist aufgrund der chiralen Trennung deutlich zu erkennen, dass es sich bei der in der Probe befindlichen Substanz um Levamisol und nicht um Tetramisol handelt. Dies wurde durch Standardzugabe von Levamisol abgesichert. Die sichere Identifizierung erfolgte über das MS/MS-Spektrum, welches in Abbildung 5.21 dargestellt ist.

Zusammenfassend lässt sich durch das Gesagte nachweisen, dass die in diesem Kapitel beschriebene chirale CE-ESI-MS-Methode gut für die enantioselektive Bestimmung verschiedenster Rauschgifte, Zusatzstoffe und Verunreinigungen geeignet ist. Es handelt sich

um eine sehr flexible Methode mit hoher Matrixtoleranz und relativ kurzer Analysendauer. Es ist daher möglich eine breite Palette an Substanzen in kurzer Zeit zu trennen und zu erfassen, ohne dass dabei eine zeitaufwendige Probenvorbereitung nötig ist. Auch kann das Verfahren in der täglichen Fallarbeit eingesetzt werden, ohne dass Umbauarbeiten am Gerät nötig sind, da ein Wechsel der Anwendung durch einfachen Wechsel des Laufpuffers möglich ist. Dieser Aspekt ist für ein Routineverfahren mit hohem Probendurchsatz von hoher Relevanz. Die in der Kapillarelektrophorese am häufigsten verwendete Detektionsmethode ist die UV-Detektion. Hierbei werden die Analyte nach der Trennung vorwiegend anhand ihrer Migrationszeit identifiziert. Dabei handelt es sich jedoch um keine eindeutige Identifizierung, da es häufig vorkommt, dass unterschiedliche Substanzen die gleiche Migrationszeit haben. Die Kopplung von Kapillarelektrophorese mit Massenspektrometrie als Detektionsmethode gewährleistet die sichere Identifizierung bereits bekannter Substanzen. Auch wird die Empfindlichkeit der Methode durch die Verwendung von Massenspektrometrie erhöht. Die aufgeführten Beispiele zeigen die Wichtigkeit und differenzierende Bedeutung der massenspektrometrischen Detektion.

6 Achirale Identifizierung und Quantifizierung von Rauschgiften und Zusatzstoffen

In Kapitel 5 wurde die Bedeutung der chiralen Identifizierung von Rauschgiften und Zusatzstoffen aufgezeigt. Für einige Anwendungen ist jedoch die achirale Identifizierung ausreichend. Auch ist oft für die Quantifizierung eine Unterscheidung der beiden Enantiomere nicht nötig, da der Gesamtwirkstoffgehalt von wesentlichem Interesse ist. Im Folgenden sind daher die achirale Quantifizierung von Synephrin mittels Kapillarelektrophorese-ESI-Massenspektrometrie (CE-ESI-MS) sowie die achirale Identifizierung einer unbekannten Designerdroge als weitere Anwendungsbeispiele für die CE-ESI-MS in der forensischen Betäubungsmittelanalytik dargestellt.

6.1 Durchführung

6.1.1 Quantifizierung

Bei der Verwendung von CE-ESI-MS-Methoden hat man allgemein mit Reproduzierbarkeitsproblemen zu kämpfen, da die Ionenbildung im Elektrospray nur begrenzt reproduzierbar ist. Die Ionisierungseffizienz ist matrixabhängig. Daraus resultieren relativ hohe relative Standardabweichungen der Peakflächen. Eine mögliche Lösung des Problems ist die Quantifizierung über deuterierte Standards, da davon auszugehen ist, dass diese sich bei der Ionenbildung im Elektrospray genauso verhalten wie die zu quantifizierenden nicht deuterierten Analyte. Diese deuterierten Standards sind jedoch sehr teuer und nicht für jeden Analyt erhältlich. Daher wurde die Quantifizierung hier über die Standardadditionsmethode durchgeführt. Dabei wird zunächst die zu quantifizierende Probe gemessen und die Peakfläche der entsprechenden Substanz von Interesse bestimmt. Anschließend wird derselben Probe in mehreren Schritten jeweils eine definierte Menge der zu quantifizierenden Substanz zugegeben, und es wird jeweils wiederum die Peakfläche bestimmt. Dabei kann ebenfalls davon ausgegangen werden, dass der zu quantifizierende Analyt und die zugegebenen Analyte den gleichen Bedingungen im Elektrospray unterliegen, wobei auch diese von Messung zu Messung schwanken, was zu Reproduzierbarkeitsproblemen führen kann.

Bei der sehr häufig verwendeten Kalibriergeradenmethode hingegen wird die Kalibriergerade erstellt und separat dazu werden die zu quantifizierenden Proben mit zeitlichem Abstand

analysiert. Eine große Rolle spielen hierbei unterschiedliche Matrixeffekte, denen die Analyte bei Verwendung der Kalibriergeradenmethode ausgesetzt sind. Da die Ionisierungseffizienz im Elektrospray matrixabhängig ist, führt dies zu hohen relativen Standardabweichungen der Peakflächen und somit zu ungenauen Quantifizierungen.

6.1.2 Analysemethode

Für die Messungen wurde ein Beckman-Coulter P/ACE 5000 CE-System – gekoppelt über ein coaxiales ESI-Sprayer-Interface (Agilent) an ein HCT plus Ionenfallen-Massenspektrometer – verwendet (CE-ESI-MS-System I). Die Trennung wurde in einer fused-silica Kapillare mit einem Innendurchmesser von 50 µm und einer Länge von 82 cm bei einer Temperatur von 20 °C und einer Spannung von +25 kV durchgeführt. Als Laufpuffer wurde 100 mmol/L Ameisensäure +10 % Isopropanol verwendet. Elektrosprayionisation wurde bei 4500 V durchgeführt. Als sheath liquid wurde ein Isopropanol/Wasser-Gemisch (50/50, v/v) bei einer Flussrate von 3 µL/min verwendet. Bei dem verwendeten Trockengas handelte es sich um Stickstoff mit einer Flussrate von 4 L/min bei 250 °C. Als Nebulizergas kam Stickstoff bei 4 psi zum Einsatz. Bei der hier verwendeten Analysemethode handelt es sich um eine Standard-CE-ESI-MS-Methode für ein breites Spektrum an Analyten.

Die Stammlösung der Referenzsubstanz Synephrin bestand aus einer wässrigen Lösung mit einer Konzentration von 5 mmol/L. Für die CE-ESI-MS-Messungen wurde die Stammlösung mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt, um die passenden Konzentrationen für die Standardzugabe zu erhalten (0,25 µmol/L, 0,625 µmol/L, 1,25 µmol/L, 1,875 µmol/L, 2,5 µmol/L). Für die Herstellung der Probelösung zur Quantifizierung von Synephrin wurde der zu quantifizierende Synephrinextrakt (Bitterorangenextrakt Orange Blossom) 1:100 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt. Die Herstellung der Probelösung der unbekannten Designerdroge erfolgte durch Lösen von circa 20 mg homogenisierter Probe in 1 ml Wasser. Für die CE-ESI-MS-Messungen wurde die Probelösung 1:20 mit Ameisensäure (1 mol/L) verdünnt.

6.2 Ergebnisse und Diskussion

6.2.1 *Synephrinquantifizierung*

Im Folgenden sind die Ergebnisse für die Bestimmung des Synephringehaltes in dem Bitterorangenextrakt Orange Blossom dargestellt. Die Bezeichnung Bitterorange wird im Allgemeinen zur Beschreibung der Zitruspflanze *Citrus aurantium* (Bitterorange oder Pomeranze) aus der Familie der Rautengewächse verwendet. Dabei handelte es sich um einen kleinen bis zu 5 m hohen Baum (Bitterorangenbaum, Goldapfel, Warzenpomeranze), seltener ein Strauch. Dieser ist heimisch im tropischen Indochina und kultiviert in zahlreichen tropischen und subtropischen Ländern der Erde [59]. Verschiedene Teile des Zitrusbaumes werden in der traditionellen Naturheilkunde eingesetzt, da sie vermutlich eine Appetit steigernde und verdauungsfördernde Wirkung haben. In der traditionellen chinesischen Medizin werden zum Beispiel die getrockneten Früchte zur Verdauungsanregung verwendet, während die Blätter in Südamerika und Mexiko als Sedativum zum Einsatz kommen. Die ätherischen Öle der Frucht werden für Liköre und Parfum verwendet [60]. Auch existieren Diätprodukte aus Bitterorange als Appetitzügler. Diese Produkte haben zu einem großen Teil die ephedrinhaltigen Diätprodukte aus der Pflanze *Ephedra sinica* verdrängt, da diese mit Herzinfarkten und anderen gesundheitsschädlichen Nebenwirkungen, vermutlich aufgrund von Ephedrin, Norephedrin und Pseudoephedrin in Verbindung gebracht werden [60]. Bitterorange enthält verschiedene Alkaloide wie Synephrin, Octopamin, Tyramin, N-Methyltyramin und Hordenin. Diese haben eine verdauungsfördernde Wirkung und steigern die Fettverbrennung. Synephrin und Octopamin haben dabei die höchste Aktivität und Synephrin ist in deutlich höherer Konzentration in Bitterorange enthalten als die anderen Alkaloide [60]. Doch auch in Verbindung mit Orange Blossom gibt es Bedenken hinsichtlich des gesundheitlichen Risikos, vor allem im Hinblick auf erhöhten Blutdruck und Herzprobleme [60]. Daher ist eine Bestimmung des Synephringehaltes in solchen Diätprodukten von forensischem Interesse. Der Bitterorangenextrakt Orange Blossom wurde mit der in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen CE-ESI-MS-Methode analysiert und der Gehalt an Synephrin wurde über die Standardadditionsmethode bestimmt. Dafür wurde zunächst die Probe mit bekanntem Gehalt an Orange Blossom gemessen und die Peakfläche für Synephrin bestimmt. Anschließend erfolgten fünf Standardzugaben an Synephrin mit definierter Konzentration zu dieser Probe (0,25 µmol/L, 0,625 µmol/L, 1,25 µmol/L, 1,875 µmol/L, 2,5 µmol/L). Die jeweils ermittelten Peakflächen wurden gegen die Konzentration aufgetragen. Die entsprechende Gerade ist in Abbildung 6.1 dargestellt.

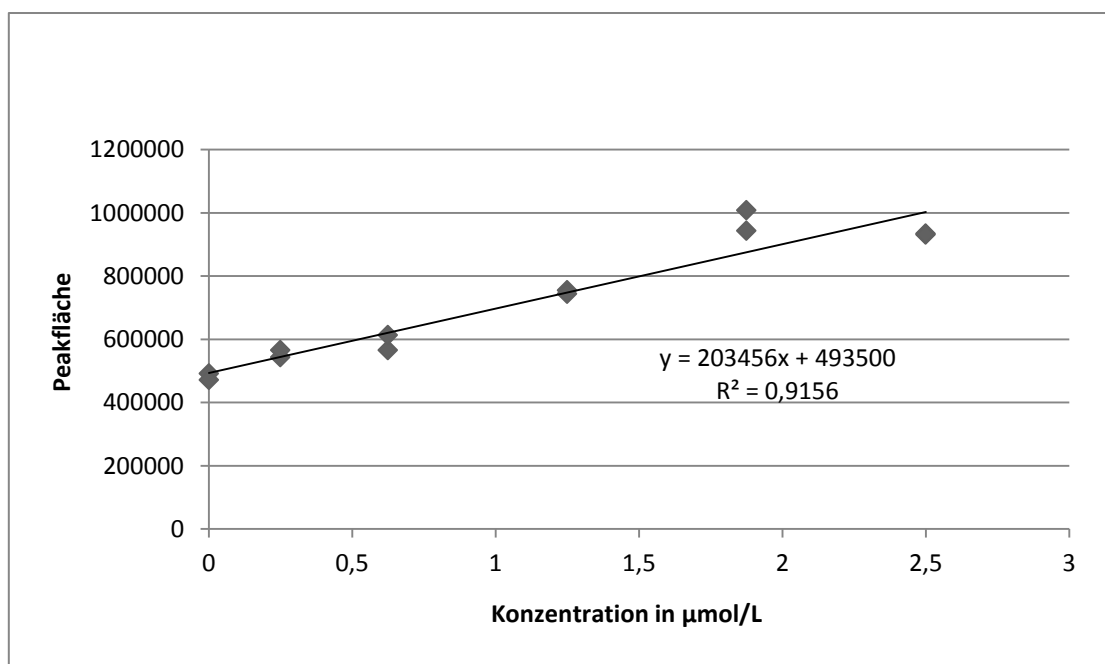


Abbildung 6.1: Auftragung der Synephrinkonzentration gegen die Peakfläche
Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 100 mmol/L Ameisensäure + 10 % Isopropanol;
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L/min}$; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

Aus der bei 0 $\mu\text{mol/L}$ aufgetragenen Peakfläche lässt sich nun durch Extrapolation die Synephrinkonzentration in der Messprobe ermitteln. Diese beträgt 2,42 $\mu\text{mol/L}$. Daraus ergibt sich ein Synephringehalt von 0,126 % im Orange Blossom Extrakt. Das Bestimmtheitsmaß der für die Quantifizierung verwendeten Gerade ist mit 0,9156 relativ niedrig. Eine Verwendung relativer Peakflächen kann zur Verbesserung des Bestimmtheitsmaßes beitragen, da störende Effekte, wie zum Beispiel Probeaufgabenbeschwankungen, ausgeglichen werden. Daher wurde die Auswertung der Quantifizierung noch einmal unter Verwendung der relativen Peakfläche durchgeführt, das heißt die ermittelten Peakflächen wurden auf den internen Standard Benzylamin bezogen und wiederum gegen die Konzentration aufgetragen. Die resultierende Gerade ist in Abbildung 6.2 dargestellt.

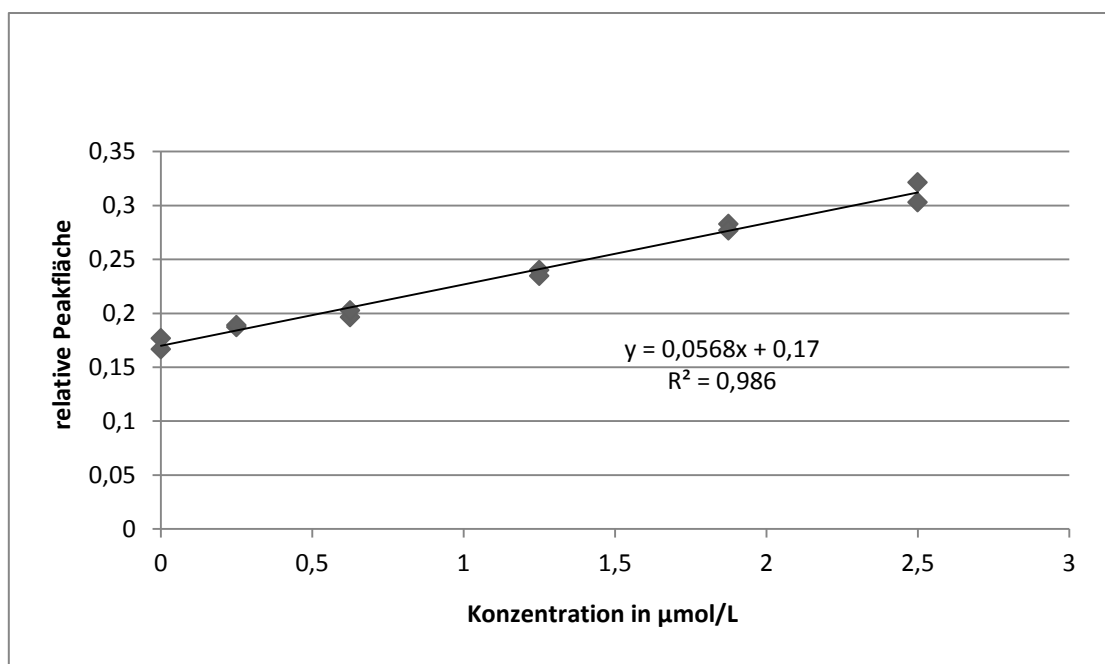


Abbildung 6.2: Auftragung der Synephrinkonzentration gegen die relative Peakfläche
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

Das Bestimmtheitsmaß von 0,986 ist nun deutlich höher, da der interne Standard den Probeaufgabeschwankungen ebenso unterliegt und durch die Normierung der Peakflächen auf die Peakfläche des internen Standards diese Schwankungen ausgeglichen werden.

Aus der bei 0 µmol/L aufgetragenen relativen Peakfläche lässt sich nun wiederum durch Extrapolation die Synephrinkonzentration in der Messprobe ermitteln. Diese beträgt nun 2,99 µmol/L. Daraus ergibt sich ein Synephringehalt von 0,156 % im Orange Blossom Extrakt.

Aufgrund der massenspektrometrischen Detektion können weitere Schwankungen der Peakflächen durch nicht reproduzierbare Ionenbildung im Elektrospray zu Stande kommen. Die hier beschriebene CE-ESI-MS-Methode eignet sich jedoch grundsätzlich für die Quantifizierung.

6.2.2 Identifizierung einer unbekannten Designerdroge

Ein weiteres Beispiel für die Anwendung von CE-ESI-MS in der Betäubungsmittelanalytik ist die Identifizierung unbekannter Designerdrogen. Diese werden in illegalen Laboratorien durch Variation der Struktur bekannter Arzneimittel oder klassischer Betäubungsmittel synthetisiert. Sie haben ein hohes Missbrauchspotential und sind auf dem illegalen Drogenmarkt weit verbreitet [61, 13].

Im Jahr 2004 tauchten erstmals Ecstasy-Tabletten in Europa auf, die neben MDMA auch die Designerdroge 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amfetamin enthielten. Über die physiologische Wirksamkeit dieser Droge ist nicht viel bekannt, es wird nur vermutet, dass ihre Aktivität aufgrund der relativ hohen Polarität recht gering ist [62]. Möglicherweise handelt es sich hierbei auch gar nicht um eine absichtlich synthetisierte Designerdroge, sondern 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amfetamin wurde ungeplant anstelle von MDEA synthetisiert, indem versehentlich Ethanolamin anstelle von Ethylamin bei der Synthese verwendet wurde [62].

Im Rahmen des EU-Projektes CHAMP wurde eine Probe mit 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amfetamin an alle teilnehmenden Partner verteilt. Diese sollten die unbekannte Substanz in einer Art Ringversuch identifizieren. Neben anderen Analysemethoden wurde die Probe im Rahmen des EU-Projektes und dieser Arbeit mit CE-ESI-MS untersucht [62].

Im Folgenden ist die Identifizierung beziehungsweise Bestätigung der Struktur von 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)-amfetamin unter Verwendung der in Abschnitt 6.1.2 erläuterten CE-ESI-MS-Methode beschrieben.

Abbildung 6.3 und Abbildung 6.4 zeigen die CE-ESI-MS-Messung der Probe.

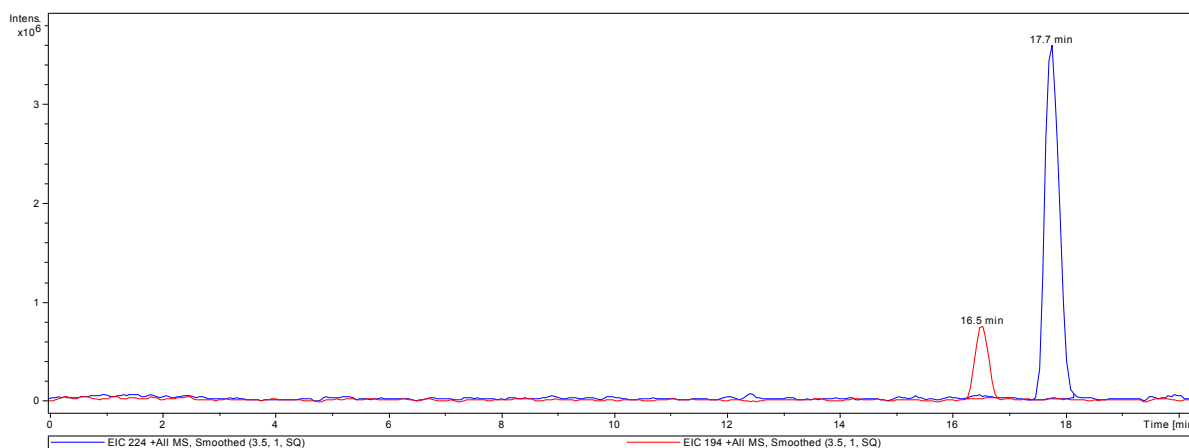


Abbildung 6.3: CE-ESI-MS-Messung der Probe: Massenspuren 194 (MDMA) und 224 (unbekannt)
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

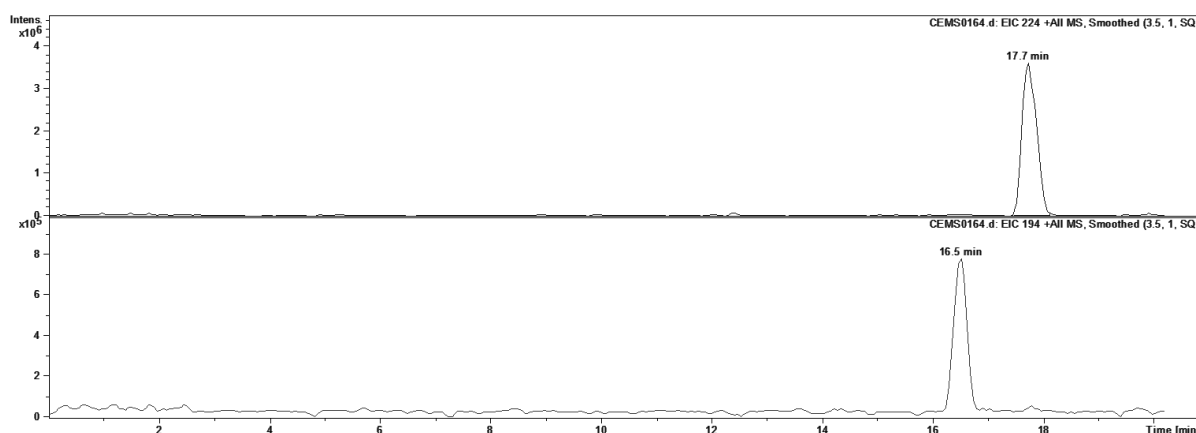


Abbildung 6.4: CE-ESI-MS-Messung der Probe: Massenspur 194 (MDMA) und 224 (unbekannt)
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

In beiden Abbildungen ist auf der Massenspur 194 m/z ($M+1$) ein Signal bei einer Migrationszeit von 16,5 Minuten zu sehen. Dieses ist der Anwesenheit von MDMA in der Probe zuzuschreiben. Ein weiteres Signal bei einer Migrationszeit von 17,7 Minuten ist auf der Massenspur 224 m/z zu sehen. Dieses wird durch die zu identifizierende Designerdroge 3,4-Methylendioxy-N-(2-hydroxyethyl)-amfetamin (MDHOEt) hervorgerufen. Das Massenspektrum der unbekannten Substanz ist in Abbildung 6.5 abgebildet. Es zeigt den Molekülpeak ($M+1$) bei einer Masse von 224.

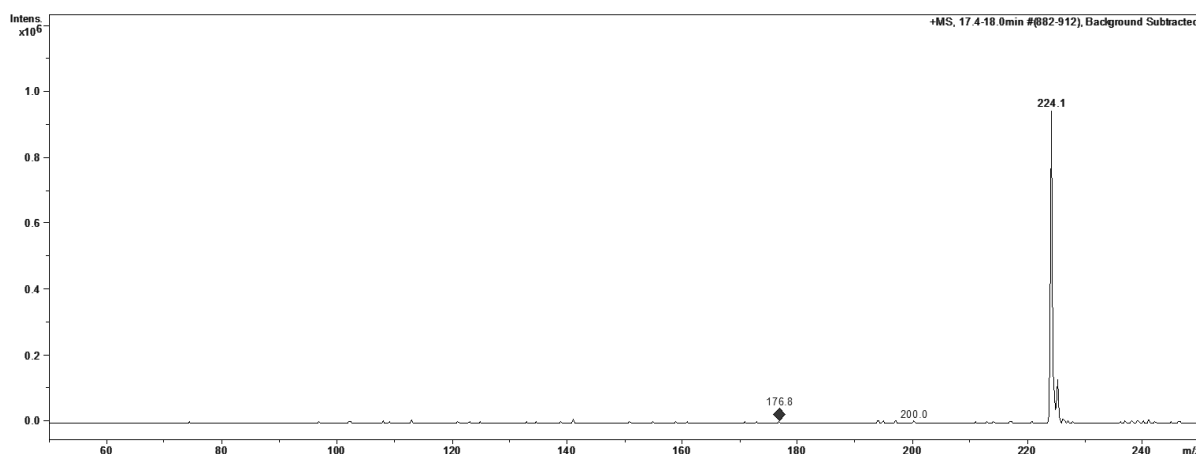


Abbildung 6.5: Massenspektrum des Signals bei 17,7 Minuten auf der Massenspur 224 m/z
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

Die Molmasse der zu identifizierenden Substanz beträgt folglich 223 g/mol. Des Weiteren wurde ein MS/MS-Spektrum des Ions 224 aufgenommen. Dieses ist in Abbildung 6.6 dargestellt.

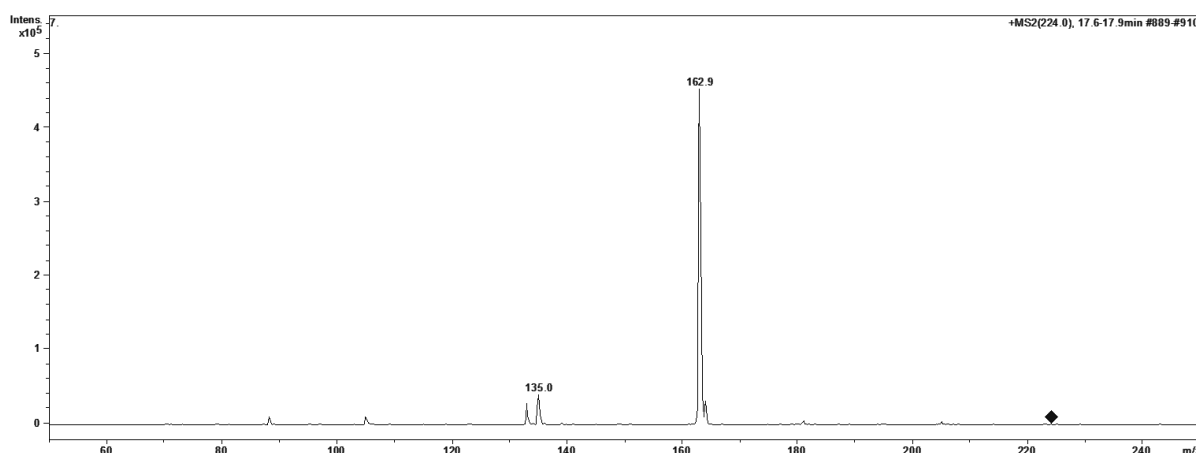


Abbildung 6.6: MS/MS-Spektrum von Ion 224
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

In dem MS/MS-Spektrum sind weitere Signale bei $m/z = 135$ und $m/z = 163$ zu sehen. Diese sind durch das Fragmentierungsmuster von 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amfetamin zu erklären. Die Entstehungen der Signale bei $m/z = 163$ und $m/z = 135$ sind in Abbildung 6.7 veranschaulicht.

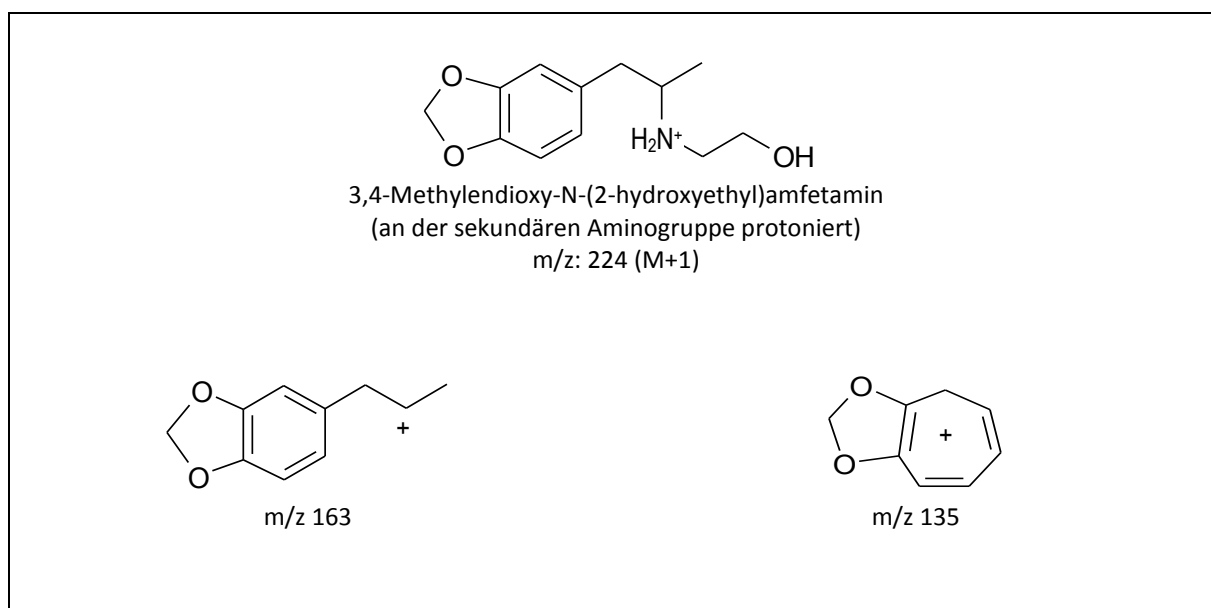


Abbildung 6.7: Vermutete Struktur der unbekannten Substanz sowie deren Fragmentierung
Messbedingungen wie in Abbildung 6.1

Das Fragment mit der Masse 163 kommt durch Abspaltung von $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (-61) zu Stande. Das weitere Signal bei $m/z = 135$ ist durch die Abspaltung von CH_2CH_2 (-28), ausgehend von dem Fragment mit der Masse 163, zu erklären beziehungsweise durch Abspaltung von $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (-89) vom protonierten Ausgangsmolekül.

3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amfetamin [62]. Die Struktur der unbekannten Substanz ist somit bestätigt. Es handelt sich um 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)-amfetamin.

7 Materialvergleich am Beispiel von Metamfetamin (Yaba-Tabletten)

In den vorangegangenen Kapiteln ist die Entwicklung und Validierung einer CE-ESI-MS-Methode für die chirale Identifizierung und Quantifizierung einer breiten Palette an Rauschgiften und Zusatzstoffen beschrieben worden. Neben der Analyse des Hauptwirkstoffes ist auch die Identifizierung chiraler organischer Spurenverunreinigungen von forensischem Interesse. Insbesondere bei illegalen Metamfetaminzubereitungen (zum Beispiel „Yaba“), die in Deutschland zunehmend an Bedeutung gewinnen, kann die enantioselektive Bestimmung der aktiven Substanz Hinweise auf die verwendete Syntheseroute sowie die eingesetzten Vorläufersubstanzen geben [26]. Aber nicht nur die enantioselektive Identifizierung der aktiven Substanz, sondern auch die enantioselektive Bestimmung der chiralen Verunreinigungen kann zur Identifizierung von Distributionswegen und zum Nachweis von Rauschgiftmaterialzusammenhängen herangezogen werden [27].

Aus diesem Grund wird in diesem Kapitel die für das Screening entwickelte chirale CE-ESI-MS-Methode sowie eine in früheren Arbeiten entwickelte chirale CE-Methode auf Eignung für den Materialvergleich von Metamfetaminproben geprüft. Beide Verfahren werden einem klassischen GC-MS-Verfahren für Metamfetaminprofiling, welches während des EU-Projektes CHAMP entwickelt und harmonisiert wurde, gegenübergestellt, um den Wert der Methoden besser einordnen zu können. Für alle drei Methoden wird der Materialvergleich an denselben Proben von Yaba-Tabletten durchgeführt.

Klassischerweise werden GC basierte Verfahren für den Materialvergleich von Metamfetamin anhand von in den Proben enthaltenen Spurenverunreinigungen eingesetzt [63, 28, 64, 65, 66, 67]. Eine Fülle von in illegalen Metamfetaminproben enthaltenen Spurenverunreinigungen sind mit diesen Methoden erfassbar [68, 69]. Mit den in dieser Arbeit verwendeten CE-Methoden können nur einige dieser Komponenten erfasst werden. Dabei handelt es sich jedoch gerade um die Komponenten, bei denen eine chirale Information wertvolle Rückschlüsse auf die eingesetzten Vorläufersubstanzen und verwendeten Syntheserouten möglich macht. Daher sollte ein Materialvergleich anhand dieser Komponenten ebenfalls möglich sein. Die chiralen Informationen sind mit den klassischen GC-Profiling-Methoden nicht zugänglich.

7.1 Durchführung

7.1.1 *Chirale CE-ESI-MS-Methode*

Die verwendete chirale CE-ESI-MS-Methode zur enantioselektiven Identifizierung chiraler Betäubungsmittel und Wirkstoffe wurde in Kapitel 5 optimiert und wird nun für den Materialvergleich angepasst. Für die Messungen wurde ein Beckman-Coulter P/ACE 5000 CE-System – gekoppelt über ein coaxiales ESI-Sprayer Interface (Agilent) an ein HCT plus Ionenfallen-Massenspektrometer – verwendet (CE-ESI-MS-Gerät I). Die Trennung wurde in einer fused-silica Kapillare mit einem Innendurchmesser von 50 µm und einer Länge von 82 cm bei einer Temperatur von 20 °C und einer Spannung von +25 kV durchgeführt. Als Laufpuffer wurde ein Puffer mit 1 mol/L Ameisensäure, 1 mmol/L Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin und 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin verwendet. Elektrosprayionisation wurde bei 4500 V durchgeführt. Als sheath liquid wurde ein Isopropanol/Wasser-Gemisch (50/50, v/v) bei einer Flussrate von 3 µl/min verwendet. Bei dem verwendeten Trockengas handelte es sich um Stickstoff mit einer Flussrate von 4 L/min bei 250 °C. Als Nebulizergas kam Stickstoff bei 4 psi zum Einsatz.

Bei den Metamfetaminproben für den Materialvergleich handelt es sich um sichergestellte Yaba-Tabletten. Diese wurden in relativ hoher Konzentration mit einer Probenaufgabezeit von 10 Sekunden bei 3,45 kPa gemessen, damit die chiralen Verunreinigungen quantifizierbar sind. Es wurde jeweils 20 mg homogenisiertes Tablettenpulver in 1 ml destilliertem Wasser gelöst. Diese Stammlösung wurde für die Messungen 1:4 mit 1 mol/L Ameisensäure verdünnt. Eine vorherige Abtrennung des in den Tabletten enthaltenen Coffeins sowie des Hauptwirkstoffes Metamfetamin durch Extraktion ist aufgrund der hohen Matrixtoleranz der CE nicht nötig. Sämtliche Realproben wurden vom Bundeskriminalamt Wiesbaden zur Verfügung gestellt.

Die erhaltenen Datensätze wurden anschließend mit Hilfe der Bruker Software ProfileAnalysis 1.1 statistisch ausgewertet. Diese Software führt eine Hauptkomponentenanalyse durch und stellt die Probeneinteilung nach Ähnlichkeit dar. Der Materialvergleich wurde durch Quantifizierung der chiralen Verunreinigungen, die in den Yaba-Tabletten enthalten sind, durchgeführt, das heißt, es wurden die Peakflächen der für den Materialvergleich herangezogenen Verunreinigungen ermittelt, auf die Summe der Peakflächen aller verwendeten Verunreinigungen normiert und diese normierten Daten für die PCA verwendet.

7.1.2 *Chirale CE-Methode*

Das im Folgenden beschriebene chirale CE-Analyseverfahren wurde bereits in vorangegangenen Arbeiten entwickelt [10]. Das für alle Experimente verwendete CE-System ist ein Beckman-Coulter P/ACE 5510-System ausgestattet mit einem Photodioden-Array-Detektor (CE-System). Weitere Details zu dem System sind im Anhang beschrieben (Abschnitt 12.1.3). Um eine chirale Trennung der fünf relevanten beta-Phenylethylamine (Amfetamin, Metamfetamin, Ephedrin, Pseudoephedrin und Norephedrin) zu erreichen wurden 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-Cyclodextrin als chiraler Selektor dem Laufpuffer, bestehend aus einem Phosphatpuffer (25 mmol/L H_3PO_4 und 25 mmol/L KH_2PO_4 mit einem pH von 2,2), hinzugefügt. Die Trennung erfolgte bei 20 °C und einer Spannung von -15 kV. Die Stammlösungen der Referenzsubstanzen Amfetamin, Metamfetamin, Ephedrin, Norephedrin und Pseudoephedrin bestanden aus einer wässrigen Lösung mit einer Konzentration von 5 mmol/L. Für die CE-Messungen wurden die Stammlösungen 1:40 mit Wasser verdünnt. Die Probelösungen für den Materialvergleich wurden durch Auflösung von ca. 10 mg pulverförmiger Probe in 1 ml Wasser hergestellt. Diese wurden unverdünnt gemessen.

Eine chirale Trennung der fünf beta-Phenylethylamine wurde innerhalb von 30 Minuten erreicht [10]. Ein Elektropherogramm ist in Abbildung 7.1 gezeigt.

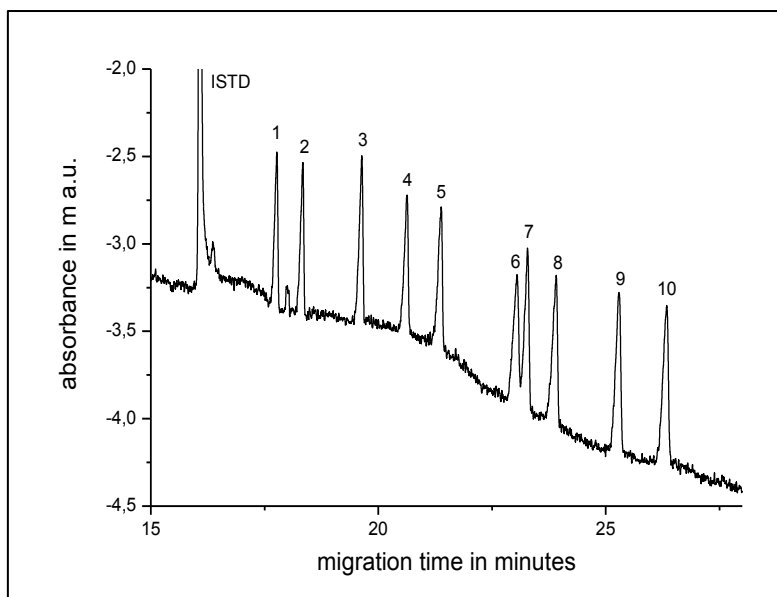


Abbildung 7.1: Chirale Trennung der fünf beta-Phenylethylamine[eigene Abbildung aus [27]]
 ISTD: Chinin, 1: (+)-Metamfetamin, 2: (+)-Amfetamin, 3: (+)-Pseudoephedrin,
 4: (-)-Metamfetamin, 5: (-)-Amfetamin, 6: (+)-Norephedrin, 7: (+)-Ephedrin,
 8: (-)-Pseudoephedrin, 9: (-)-Ephedrin, 10: (-)-Norephedrin
Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 60/67 cm,
 Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: -15 kV; Trennpuffer:
 Phosphatpuffer (25 mmol/L H_3PO_4 und 25 mmol/L KH_2PO_4) + 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-
 Cyclodextrin, pH 2,2; Detektion: UV-Detektion bei 214 nm und 2 Hz

Bei Verwendung des oben beschriebenen chiralen CE-DAD-Verfahrens werden Nachweisgrenzen im unteren $\mu\text{mol/L}$ -Bereich und Enantiomerenauflösungen bis zu 20 für die beta-Phenylethylamine erreicht. Die Werte für die 3 Sigma-Nachweisgrenzen sind in Tabelle 7.1 aufgeführt und die Werte für die Auflösungen in Tabelle 7.2

Tabelle 7.1: Nachweisgrenzen für die beta-Phenylethylamine [10]

Analyt	Peakhöhe [mAU]	S/N	3 σ -Nachweisgrenze	
			[μ mol/L]	[mg/L]
Chinin	1.36	9.1	3.3	1.07
(+)-Amfetamin	0.57	3.8	7.9	1.07
(-)-Amfetamin	0.51	3.4	8.8	1.19
(+)-Metamfetamin	0.49	3.3	9.1	1.36
(-)-Metamfetamin	0.41	2.7	11.1	1.66
(+)-Ephedrin	0.39	2.6	11.5	1.90
(-)-Ephedrin	0.29	1.9	15.8	2.61
(+)-Pseudoephedrin	0.68	4.5	6.7	1.11
(-)-Pseudoephedrin	0.45	3.0	10.0	1.65
(+)-Norephedrin	0.58	3.9	7.7	1.16
(-)-Norephedrin	0.48	3.2	9.4	1.42

Tabelle 7.2: Enantiomerenauflösung für die fünf beta-Phenylethylamine [10]

	Auflösung	Halbwertsbreite für das (-)-Enantiomer [min]	Halbwertsbreite für das (+)-Enantiomer [min]
(\pm)-Amfetamin	19.22	0.097	0.074
(\pm)-Metamfetamin	13.30	0.152	0.074
(\pm)-Ephedrin	9.76	0.116	0.095
(\pm)-Pseudoephedrin	22.97	0.116	0.090
(\pm)-Norephedrin	13.32	0.127	0.127

Die 3-Sigma-Nachweisgrenzen wurden unter Verwendung der dreifachen Standardabweichung des Basisliniensignals ($SD = 0,15$ mAU) und Peakhöhen bei einer Analytkonzentration von $10 \mu\text{mol/L}$ berechnet. Die Auflösung wurde nach Gleichung 3.3 ermittelt.

7.1.3 GC-MS-Methode für MA

Die im Folgenden beschriebene GC-MS-Methode für den Materialvergleich von Metamfetamin wurde während des EU-Projektes CHAMP entwickelt und harmonisiert [52]. Die GC-MS-Messungen wurden mit einem Agilent 6890N Gaschromatographen gekoppelt an

ein Quadrupolmassenspektrometer unter Verwendung einer DB-35MS-Trennsäule durchgeführt (GC-MS-Gerät I). Nähere Beschreibungen zu dem verwendeten Gerät befinden sich im Anhang (Abschnitt 12.1.4). Die Proben wurden mit splitloser Injektion bei 250 °C aufgegeben. Die Temperatur des Ofens startete bei 90 °C und wurde während den Messungen um 8 °C pro Minute bis auf 300 °C erhöht.

Die Proben wurden vor der Messung extrahiert, um den Hauptwirkstoff Metamfetamin abzutrennen und die Spurenverunreinigungen aufzukonzentrieren. Dafür wurden 200 mg pulverisierte Probe in 4 ml TRIS-Puffer, bestehend aus 1 mol/L TRIZMA[®] Base, in Wasser bei einem pH-Wert von 8,1 gelöst und für 10 Minuten geschüttelt. Anschließend wurden 200 µl Toluol hinzugegeben und für weitere 10 Minuten geschüttelt. Das Toluol enthielt den internen Standard Nonadecan in einer Konzentration von 10 µg/ml. Die Proben wurden 5 Minuten bei 2300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und anschließend die organische Phase für die GC-MS-Messungen abgenommen.

Nach der Messung wurden die Peakflächen ausgewählter und für das Verfahren festgelegter Targetkomponenten auf festgelegten Massenspuren integriert und auf die Summe aller Targetpeakflächen normiert. Aus den normierten Werten wurde zweimal die Wurzel gezogen, um den Einfluss großer und kleiner Peaks anzugleichen. Mit den so erhaltenen Daten wurden Pearson-Korrelationskoeffizienten berechnet, um Probenzusammenhänge über die Ähnlichkeit der Proben feststellen zu können. Zur visuellen Darstellung der Ergebnisse wurde ein Dendrogramm erstellt. Eine Liste der verwendeten Targetkomponenten befindet sich im Anhang (Abschnitt 12.5).

7.2 Ergebnisse und Diskussion

7.2.1 *Materialvergleich mittels Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie*

Zwei unterschiedliche Chargen von Yaba-Tabletten wurden mit der chiralen CE-ESI-MS-Methode analysiert. Der Materialvergleich erfolgt nun auf der Ebene chiraler Verunreinigungen, wie Ephedrin, Pseudoephedrin oder N-Methylephedrin. Es ist dann möglich, unterschiedliche Chargen illegaler Metamfetaminzubereitungen zu unterscheiden, indem die chiralen Verunreinigungen verglichen werden. Abbildung 7.2 zeigt exemplarisch eine CE-ESI-MS-Messung einer illegalen Metamfetaminprobe. Es sind dort die Massenspuren von Ephedrin, Pseudoephedrin und N-Methylephedrin dargestellt.

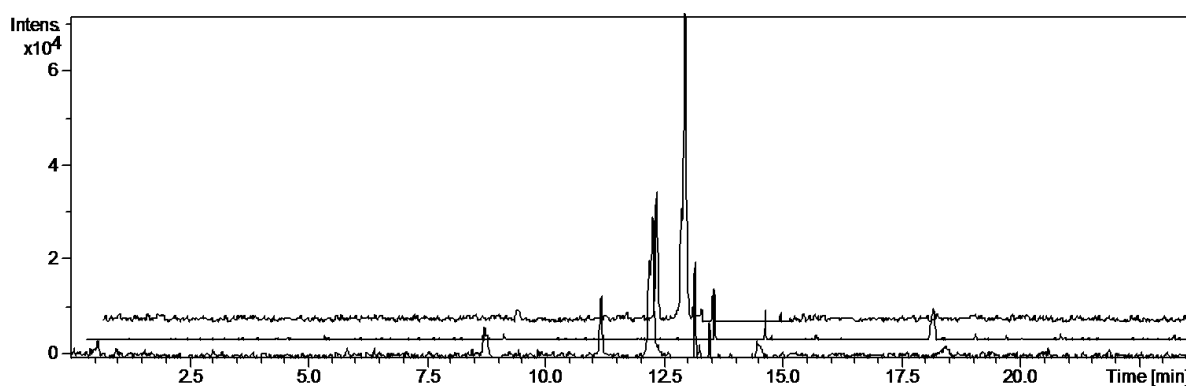


Abbildung 7.2: Chirale Verunreinigungen in einer MA Probe (Ephedrin und N-Methylephedrin)

[eigene Abbildung aus [57]]

Trennbedingungen: Injektion: 10s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin + 10 mmol/L O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}\text{C}$; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

Die Probe enthält Ephedrin und N-Methylephedrin. Für den Materialvergleich auf der Ebene der chiralen Verunreinigungen wurden die Peakflächen dieser Komponenten herangezogen. Auf diese Weise wurden die beiden unterschiedlichen Chargen von Yaba-Tabletten, wie in Abschnitt 7.1.1 beschrieben, analysiert.

Abbildung 7.3 zeigt das Ergebnis der durchgeführten Hauptkomponentenanalyse (PCA).

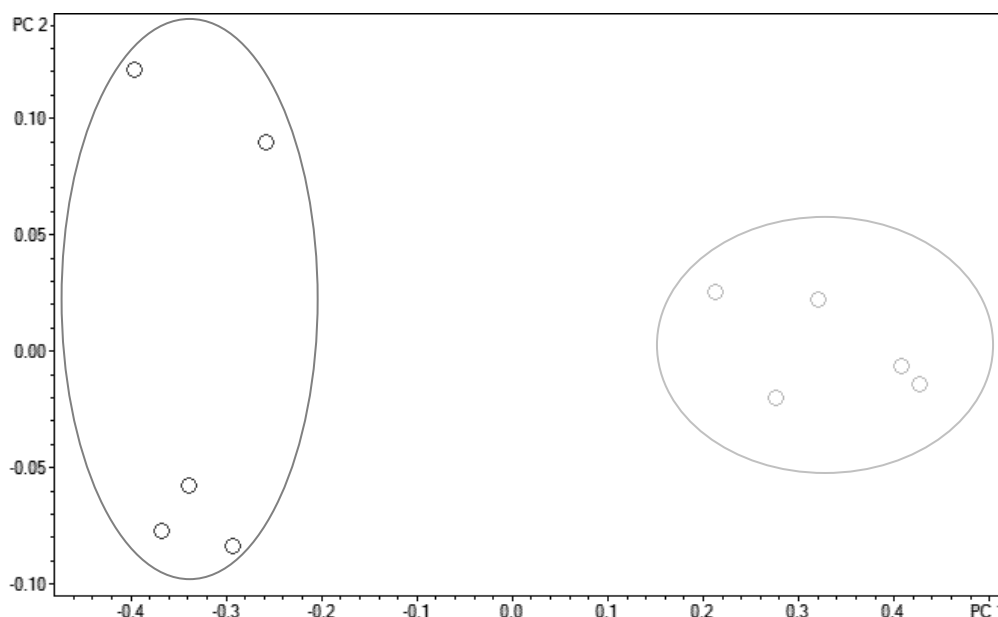


Abbildung 7.3: Unterscheidung zweier MA-Chargen (Yaba) mittels CE-ESI-MS (Faktorenwerte, Scoresplot)

[eigene Abbildung aus [57]]

Messbedingungen wie in Abbildung 7.2

Das Ergebnis der PCA zeigt die Unterteilung der Proben in die beiden Chargen. Eine Unterscheidung der Yaba-Tabletten anhand der chiralen Verunreinigungen des Wirkstoffes Metamfetamin ist möglich.

7.2.2 Materialvergleich mittels Kapillarelektrophorese

Dieselben Yaba-Tabletten-Proben wurden ebenfalls mit Kapillarelektrophorese ohne massenspektrometrische Detektion, wie in Abschnitt 7.1.2 beschrieben, untersucht. Es wurde zu den beiden Chargen aus dem vorangegangenen Abschnitt 7.2.1 allerdings noch eine weitere Charge hinzugenommen. Exemplarisch ist das Elektropherogramm von je einer Messung pro Charge in Abbildung 7.4 dargestellt.

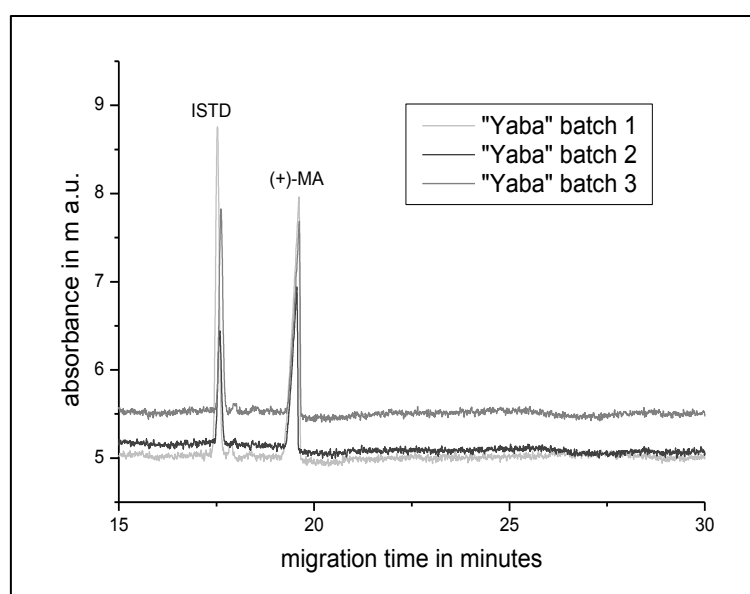


Abbildung 7.4: Elektropherogramme für drei verschiedene Chargen von Yaba-Tabletten [eigene Abbildung aus [27]]

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 60/67 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: -15 kV; Trennpuffer: Phosphatpuffer (25 mmol/L H_3PO_4 und 25 mmol/L KH_2PO_4) + 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-Cyclodextrin, pH 2,2; Detektion: UV-Detektion bei 214 nm und 2 Hz

Erwartungsgemäß enthalten alle drei Proben (+)-Metamfetamin, da dies der Hauptwirkstoff in Yaba-Tabletten ist. Durch visuellen Vergleich der in Abbildung 7.4 dargestellten Elektropherogramme sind die Proben nicht unterscheidbar.

Um die verschiedenen Chargen von Yaba-Tabletten unterscheiden zu können, wurden die chiralen Verunreinigungen in Probelösungen mit einer hohen Konzentration (ca. 10 mg pulverisierte Tablette pro ml Wasser) mit einer erhöhten Injektionszeit (8 Sekunden) analysiert. Die resultierenden Elektropherogramme sind in den Abbildungen 7.5 bis 7.7

abgebildet. Es sind exemplarisch je zwei beziehungsweise drei Elektropherogramme pro Charge dargestellt. Bei jeder Abbildung sind zusätzlich Fotos von zwei Yaba-Tabletten jeder Charge beigelegt.

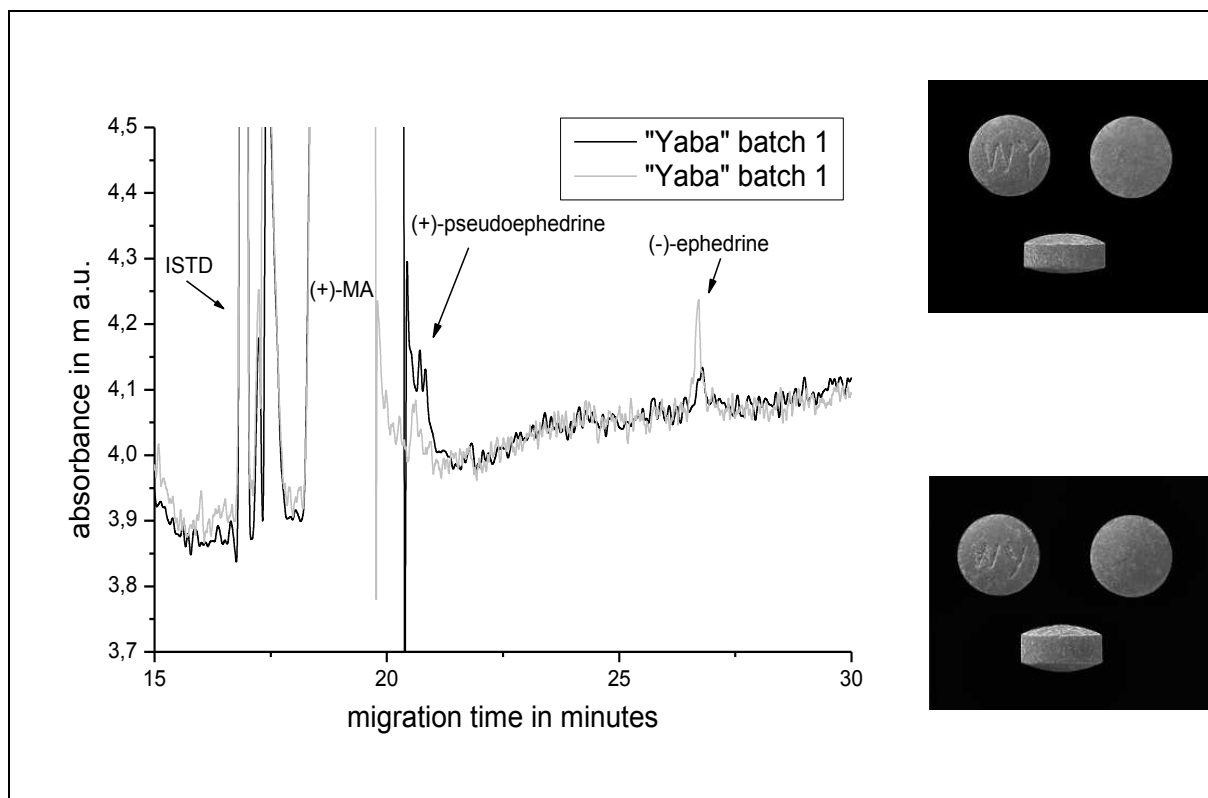


Abbildung 7.5: CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 1 [eigene Abbildung aus [27]]
Trennbedingungen: Injektion: 8s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 60/67 cm, Innendurchmesser: 50 μm ; Temperatur: 20 $^{\circ}\text{C}$; Hochspannung: -15 kV; Trennpuffer: Phosphatpuffer (25 mmol/L H_3PO_4 und 25 mmol/L KH_2PO_4) + 2,5 % (w/v) sulfatiertes beta-Cyclodextrin, pH 2,2; Detektion: UV-Detektion bei 214 nm und 2 Hz

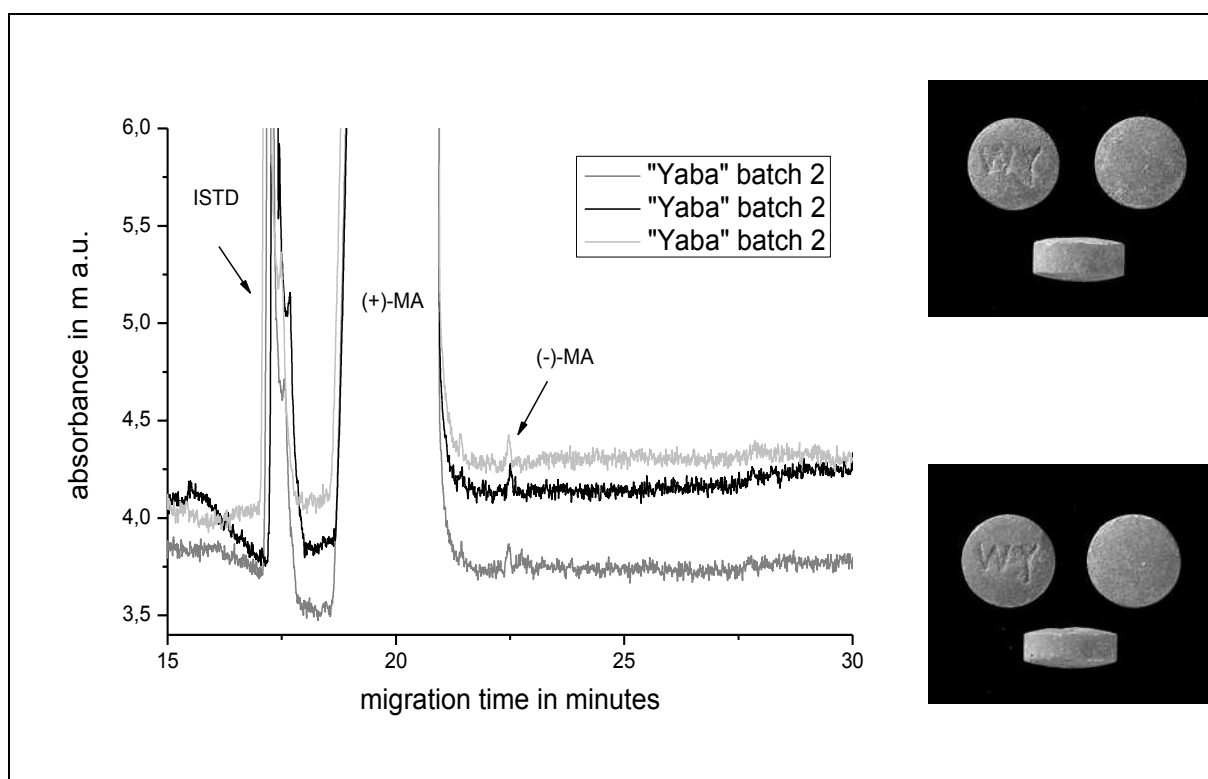


Abbildung 7.6: CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 2 [eigene Abbildung aus [27]]
Messbedingungen wie in Abbildung 7.5

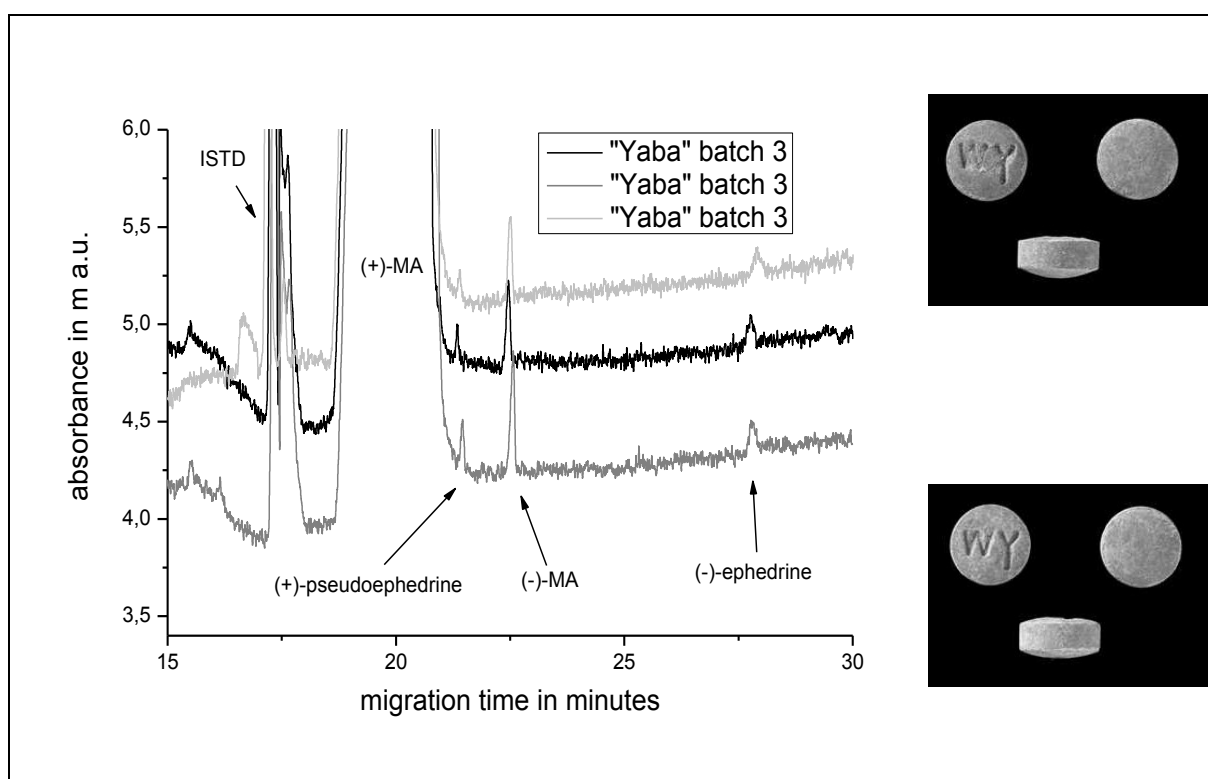


Abbildung 7.7: CE-Messungen der Yaba-Tabletten aus Charge 3 [eigene Abbildung aus [27]]
Messbedingungen wie in Abbildung 7.5

Die verschiedenen Chargen der Yaba-Tabletten konnten durch Vergleich der chiralen Verunreinigungsprofile unterschieden werden. Die erste Charge enthält Spuren von (-)-Ephedrin, (-)-Metamfetamin und (+)-Pseudoephedrin, die zweite Charge enthält nur Spuren von (-)-Metamfetamin und in der dritten Charge sind Spuren von (-)-Ephedrin, (-)-Metamfetamin und (+)-Pseudoephedrin erkennbar. Für alle Tabletten der Charge 2 sowie für alle Tabletten der Charge 3 wurden bei der Tablettierung jeweils identische Tablettenpressen verwendet, da die externen Charakteristika der Tabletten innerhalb der Chargen jeweils identisch sind. Dies ist auf den Fotos der Tabletten in den Abbildungen 7.6 und 7.7 erkennbar. Bei der Tablettierung von Charge eins wurden vermutlich für die gleiche Charge unterschiedliche Tablettenpressen verwendet, da sich die externen Parameter innerhalb der Charge unterscheiden (siehe Fotos in Abbildung 7.5).

Aufgrund der hohen Enantiomerenauflösung der Analyte und der hohen Matrixtoleranz der CE ist es möglich, die Proben bei hoher Konzentration zu messen, ohne in einem vorherigen Extraktionsschritt den Hauptwirkstoff (+)-Metamfetamin abtrennen zu müssen.

Durch Überprüfung der Reinheit der illegalen Metamfetaminproben lassen sich Rückschlüsse auf die eingesetzten Vorläufersubstanzen ziehen. Weist die illegale Probe enantiomerenreines Metamfetamin auf, das durch Reduktion von aus Medikamenten extrahiertem (+)-Pseudoephedrin hergestellt wurde, so sollte die illegale Probe keine Verunreinigungen enthalten, da in den Tabletten reines (+)-Pseudoephedrin vorliegt. Im Gegensatz dazu lassen eine signifikante Menge an chiralen Verunreinigungen im Endprodukt den Einsatz von aus *Ephedra sinica* extrahiertem (-)-Ephedrin als Edukt vermuten.

Zur Verdeutlichung dieses Effektes ist in der Abbildung 7.8 das Elektropherogramm einer Metamfetaminhydrochloridprobe dargestellt. Dieses Metamfetaminhydrochlorid wurde unter kontrollierten Bedingungen aus reinem (+)-Pseudoephedrin nach der Nagai-Methode hergestellt. Abbildung 7.9 zeigt im Vergleich dazu das Elektropherogramm einer sichergestellten Metamfetaminprobe, die illegal synthetisiert wurde. Beide Proben wurden wiederum in hoher Konzentration gemessen, damit die chiralen Verunreinigungen detektierbar sind.

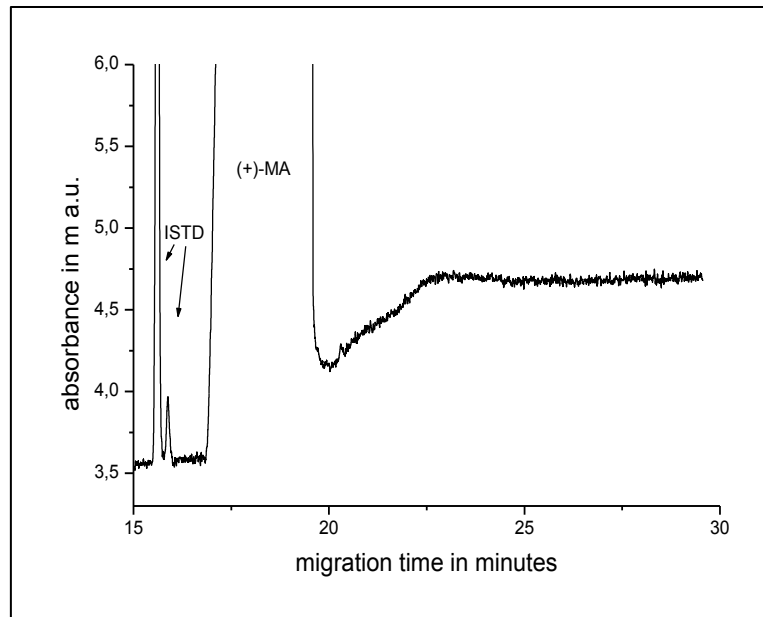


Abbildung 7.8: Metamfetaminhydrochloridprobe (kontrollierte Synthese) [eigene Abbildung aus [27]]
Messbedingungen wie in Abbildung 7.5

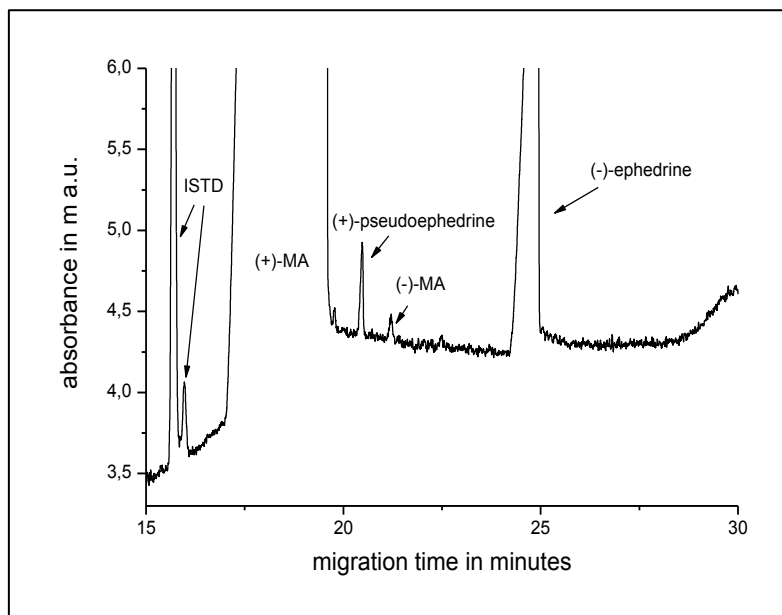


Abbildung 7.9: Illegal synthetisierte Metamfetaminhydrochloridprobe [eigene Abbildung aus [27]]
Messbedingungen wie in Abbildung 7.5

Die unter kontrollierten Bedingungen aus reinem (+)-Pseudoephedrin hergestellte Probe enthält erwartungsgemäß keine chiralen Verunreinigungen, während die illegal synthetisierte Probe signifikante Mengen an chiralen Verunreinigungen enthält. Es wurde bei der Synthese vermutlich aus *Ephedra sinica* extrahiertes (–)-Ephedrin als Edukt eingesetzt.

7.2.3 Materialvergleich mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Abschließend wurden zum Vergleich die gleichen Proben an Yabatabletten wie im vorangegangenen Abschnitt 7.2.2 mit der in Abschnitt 7.1.3 beschriebenen GC-MS-Methode analysiert. Die Extraktion der Proben stellte sich im Fall der Yaba-Tabletten allerdings als schwierig heraus, da sich stabile Emulsionen bildeten und eine Trennung der organischen und der wässrigen Phase teilweise nicht möglich war. Eine Tiefkühlung der Proben verbesserte die Phasentrennung nur bedingt. Die Emulsionsbildung ist wahrscheinlich bedingt durch Tablettierhilfsstoffe, die den Tabletten zugesetzt sind, und konnte auch durch Filtrierung der wässrigen Lösung vor Zugabe von Toluol nicht komplett unterbunden werden. Aus diesem Grund konnten nur sechs Proben aus zwei unterschiedlichen Chargen an Yaba-Tabletten analysiert und die Ergebnisse ausgewertet werden. In Abbildung 7.10 ist das Dendrogramm abgebildet.

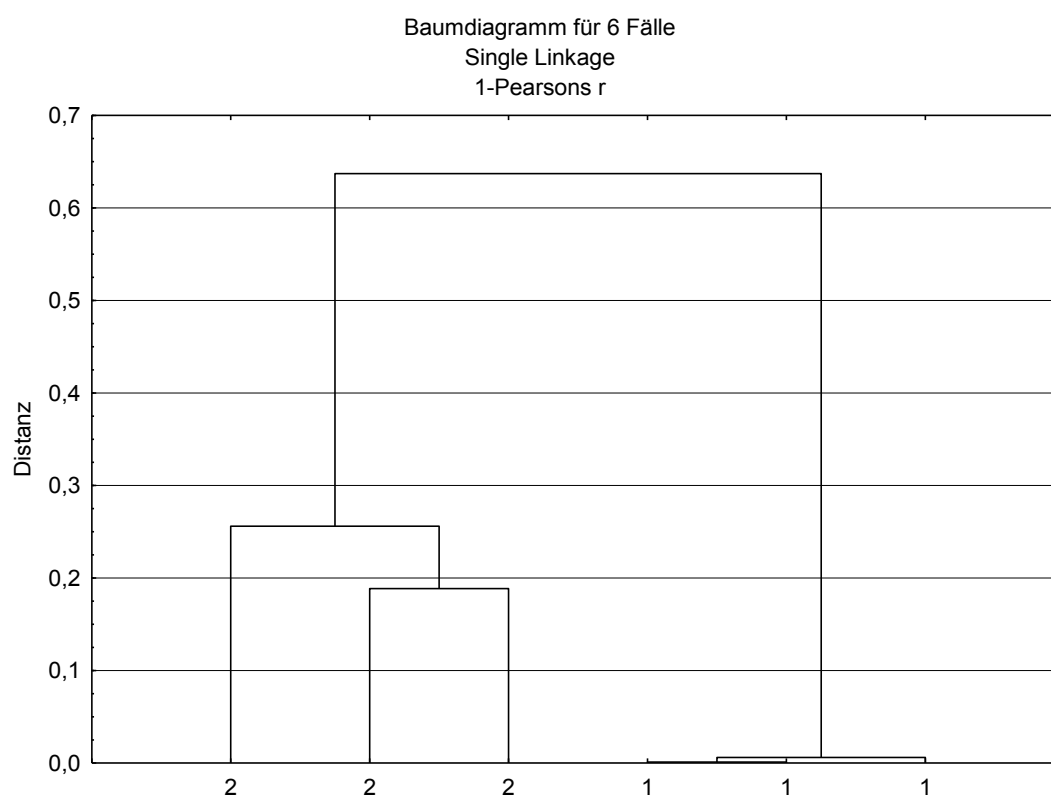


Abbildung 7.10: Dendrogramm für die Yaba-Tabletten
Messbedingungen wie in Abbildung 7.11

Die Einteilung in die beiden Chargen ist deutlich erkennbar und konsistent mit den Ergebnissen aus den vorangegangenen Unterkapiteln 7.2.1 und 7.2.2. Die Tabletten innerhalb der Charge 1 sind sich wesentlich ähnlicher als die Tabletten innerhalb der Charge 2. Auf der

y-Achse des Dendrogramms ist $1-r$ aufgetragen. r steht für den (Pearson)-Korrelationskoeffizient und ist ein Ähnlichkeitsmaß. Je näher die Werte an 1 liegen, desto ähnlicher sind sich die Proben. Da $1-r$ aufgetragen ist, sind sich die Proben ähnlicher, je kleiner die Werte sind. $1-r$ entspricht dann quasi einem Distanzmaß. Auch visuell, bei Betrachtung der kompletten Chromatogramme, unterscheiden sich die Proben der beiden Chargen. Dies ist in Abbildung 7.11 veranschaulicht.

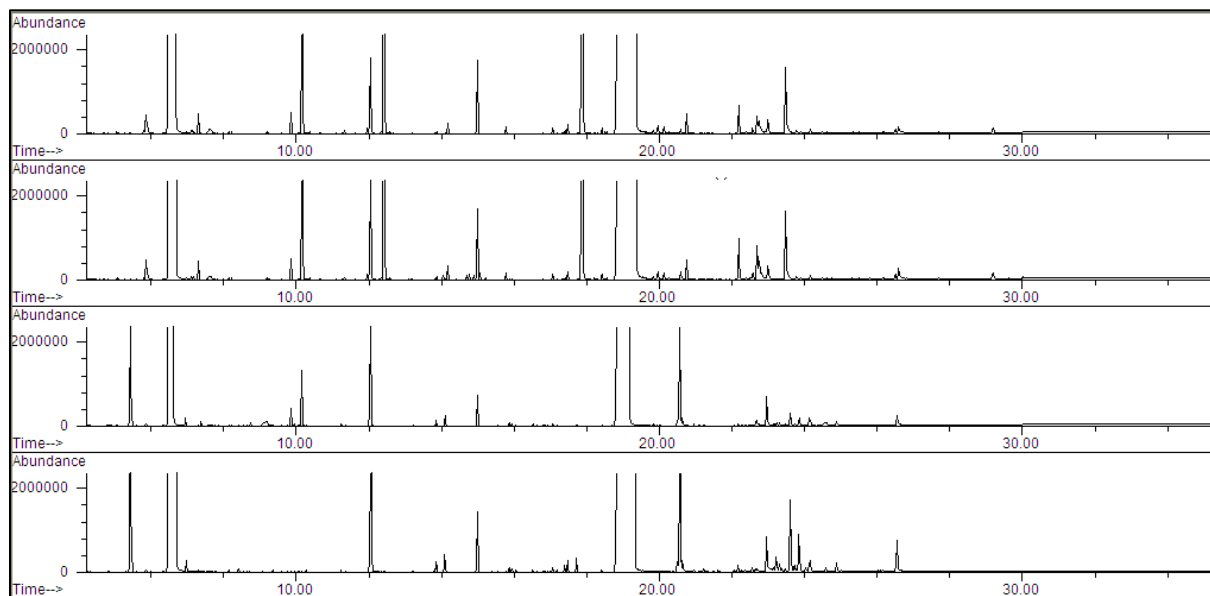


Abbildung 7.11: Chromatogramme für vier Yaba-Proben

Messbedingungen: Probenaufgabe: splitlos bei 250 °C; Temperaturprogramm: 90 °C bis 300 °C; Erhöhung um 8 °C pro Minute; Säule: DB-35MS (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm); Trägergas: Helium; Transferlinientemperatur: 310 °C; Ionenquellentemperatur: 230 °C; Massenbereich: 40-300 m/z

Die oberen beiden Chromatogramme resultierten aus Messungen zweier unterschiedlicher Yaba-Tabletten der Charge 1 und die unteren beiden Chromatogramme aus Messungen zweier unterschiedlicher Yaba-Tabletten der Charge 2. Die ersten beiden Chromatogramme sehen identisch aus, die unteren beiden Chromatogramme unterscheiden sich nur in den Retentionszeitbereichen bei 10, 18 und 24 Minuten. Die oberen beiden Chromatogramme unterscheiden sich visuell merklich von den unteren beiden.

Die Ergebnisse des Materialvergleichs mittels GC-MS am Beispiel von Yabatabletten erlauben eine eindeutige Einteilung in zwei Chargen. Mit CE-DAD und CE-ESI-MS als Analyseverfahren ergab sich die gleiche Einteilung wie mit dem routinemäßig für den Materialvergleich von Metamfetamin eingesetzten GC-MS-Verfahren.

7.2.4 *Methodenvergleich*

Im Folgenden werden nun alle drei in diesem Kapitel für den Materialvergleich von Yaba-Tabletten herangezogenen Methoden einander gegenübergestellt.

Mit der CE-DAD-Methode ist nur ein visueller Vergleich der Elektropherogramme möglich, da die Signale der Verunreinigungen zu klein sind, um quantitativ ausgewertet werden zu können. Chirale Informationen sind mit dieser Methode zugänglich, eine sichere Identifizierung der Komponenten ist jedoch nicht möglich. Es ist keine zeitaufwendige Probenvorbereitung erforderlich.

Mit der CE-ESI-MS-Methode sind ebenfalls die chiralen Informationen zugänglich. Auch ist eine Identifizierung der Komponenten aufgrund der massenspektrometrischen Detektion möglich. Die chiralen Verunreinigungen können aufgrund der im Vergleich zur CE höheren Empfindlichkeit quantitativ ausgewertet werden, es handelt sich jedoch um kein harmonisiertes Verfahren, bei dem die quantitativen Ergebnisse in eine Datenbank eingestellt werden können. Es ist, wie auch bei der CE-DAD-Methode, keine zeitaufwendige Probenvorbereitung notwendig.

Bei dem GC-MS-Verfahren handelt es sich um ein harmonisiertes Verfahren, bei dem die organischen Spurenverunreinigungen quantifiziert werden und die Daten zum Zweck eines länderübergreifenden Materialvergleichs über einen langen Zeitraum hinweg in eine Datenbank eingestellt werden können. Eine Identifizierung der Komponenten ist ebenfalls möglich. Mit der GC-MS-Methode sind jedoch keine chiralen Informationen zugänglich, und eine Probenvorbereitung durch Extraktion ist notwendig. Im Fall der Yaba-Tabletten bereitete diese Schwierigkeiten und machte eine Analyse der Proben teilweise unmöglich.

Abschließend lässt sich sagen, dass die verschiedenen Chargen der untersuchten Yaba-Tabletten mit allen drei hier beschriebenen Analysemethoden prinzipiell unterschieden werden können. Zwar sind unter Verwendung der in dieser Arbeit beschriebenen CE-Methoden, im Unterschied zur GC, nur die in den Metamfetaminproben enthaltenen beta-Phenylethylamine nachweis- beziehungsweise bestimmbar. Dies ist aber nicht unbedingt ein Nachteil, da gerade für den Materialvergleich von Metamfetamin die chiralen Verunreinigungen der Ephedrine von besonderer Bedeutung sind. Diese lassen sich nur mit den kapillarelektromigrativen Trennmethoden chiral identifizieren, und gerade diese Informationen können wertvolle Hinweise auf die eingesetzten Vorläufersubstanzen und Synthesewege geben.

8 Materialvergleich verschiedener Rauschgifte mittels Kapillarelektrophorese-ESI-Massenspektrometrie

Im vorangegangenen Kapitel wurde bereits der Materialvergleich von Yaba-Tabletten mittels CE-ESI-MS beschrieben. Hierfür wurde die in Kapitel 5 entwickelte chirale CE-ESI-MS-Methode verwendet, da gerade die in illegalen Metamfetaminproben enthaltenen chiralen Spurenverunreinigungen wertvolle Hinweise auf die eingesetzte Syntheseroute liefern können. Hierbei erfolgte also der Materialvergleich anhand der Spurenverunreinigungen des Hauptwirkstoffes. In diesem Kapitel wird nun auf den Materialvergleich von Heroin und Kokain mittels CE-ESI-MS eingegangen. Hierbei erfolgt der Materialvergleich durch Quantifizierung von NebenkompONENTEN, die während der Synthese des Hauptwirkstoffes entstehen, sowie von Zusätzen. Der Materialvergleich mit klassischen GC-Methoden erfolgt ebenfalls oft auf diese Weise [70, 71]. Chirale Informationen sind hierbei nicht relevant. Daher wird die in Kapitel 6 beschriebene achirale Variante der in Kapitel 5 entwickelten chiralen CE-ESI-MS-Methode verwendet. Der Vorteil der einfachen Erfassung von Analyten in komplexen Matrices mit Hilfe der CE wird in der Drogenanalytik insbesondere beim chemischen Profiling von Heroin und Kokain [72] ausgenutzt. Hier wurde CE-ESI-MS wiederum aufgrund der hohen Empfindlichkeit und Identifizierungssicherheit als Analyseverfahren gewählt. Aufgrund der hohen Matrixtoleranz ist im Vergleich zu den routinemäßig für den Materialvergleich von Heroin und Kokain eingesetzten GC-Methoden [70] keine zeitaufwendige Probenvorbereitung notwendig.

8.1 Durchführung

8.1.1 Analysemethode

Für die Messungen wurde ein PrinCE 560 CE-System gekoppelt über ein coaxiales ESI-Sprayer Interface (Agilent) an ein HCT plus Ionenfallen-Massenspektrometer verwendet (CE-ESI-MS-System II). Die Trennung wurde in einer fused-silica-Kapillare mit einem Innendurchmesser von 50 μm und einer Länge von 70 cm bei einer Temperatur von 20 $^{\circ}\text{C}$ und einer Spannung von +25 kV sowie einem Stromfluss von 9 μA durchgeführt. Als Laufpuffer wurde 100 mmol/l Ameisensäure +10 % Isopropanol verwendet. Elektrosprayionisation wurde bei 4500 V durchgeführt. Als sheath liquid wurde ein Isopropanol/Wasser-Gemisch (50/50, v/v) bei einer Flussrate von 3 $\mu\text{l}/\text{min}$ verwendet. Bei

dem verwendeten Trockengas handelte es sich um Stickstoff mit einer Flussrate von 4 L/min bei 250 °C. Als Nebulizergas kam Stickstoff bei 4 psi zum Einsatz.

Die Stammlösungen für den Materialvergleich von Heroin wurden angesetzt, indem 20 mg Probe in 1 ml Ethanol gelöst wurde. Die Stammlösungen für den Materialvergleich von Kokain bestanden aus 20 mg Probe auf 1 ml Wasser. Sowohl die Heroin- als auch die Kokainproben wurden für den Materialvergleich in relativ hoher Konzentration gemessen. Hierfür wurden die Stammlösungen 1:4 mit Wasser verdünnt. Die Proben wurden vom Bundeskriminalamt Wiesbaden zur Verfügung gestellt.

8.1.2 Die Software ProfileAnalysis

Die erhaltenen Datensätze wurden anschließend mit Hilfe der Bruker-Software ProfileAnalysis 1.1 statistisch ausgewertet, um deren Eignung für dieses Anwendungsgebiet zu überprüfen.

Die Software ProfileAnalysis ist eine Software zur chemometrischen Datenauswertung von CE-ESI-MS- und LC-MS-Datensätzen. Sie führt eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durch. Üblicherweise werden für den Materialvergleich die Peakflächen bestimmter, vorher festgelegter Targetkomponenten bestimmt. Mit den Werten der normierten Peakflächen wird eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Die Software ProfileAnalysis führt jedoch die Hauptkomponentenanalyse nicht mit vorher manuell ermittelten Peakflächen durch, sondern sie teilt die gesamten CE-ESI-MS- beziehungsweise LC-MS-Datensätze in Bereiche, so genannte Buckets, ein. Jeder Bereich repräsentiert eine Migrationszeit- beziehungsweise Retentionszeitspanne sowie eine m/z-Spanne des Datensatzes. Die Größen der Zeitspanne sowie der m/z-Spanne, und somit die Größe der Bereiche, können vom Benutzer festgelegt werden. Für jeden Bereich wird ein Intensitätswert berechnet, indem die Intensitäten aller Datenpunkte innerhalb des Bereichs aufsummiert werden. Zur Normierung können die Intensitäten jeweils durch die Summe aller Intensitäten geteilt werden. Mit dieser reduzierten Menge an Datenpunkten wird eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Eine manuelle Integration der Peakflächen festgelegter Targetkomponenten ist nicht notwendig. In dieser Arbeit betrug die Zeitspanne jeweils 60 Sekunden und die m/z-Spanne betrug jeweils 1, damit jedem Bucket nur eine Massenspur zugehörig ist. Der aus der Hauptkomponentenanalyse resultierende Scores-Plot zeigt die Verteilung der analysierten Proben an, im resultierenden Loadings-Plot repräsentiert jeder Punkt einen Bucket. Da jedem Bucket nur eine Massenspur sowie eine relativ kleine Migrationszeitspanne (60 s) zugeordnet ist, liegt nicht mehr als ein Analyt innerhalb eines Buckets.

8.2 Ergebnisse und Diskussion

Heroinproben enthalten, neben dem Hauptwirkstoff Heroin (Diacetylmorphin), weitere Wirkstoffe. Es handelt sich hierbei um Opiumalkaloide, die als Nebenprodukte bei der Herstellung des Hauptwirkstoffs entstehen. Diese sind in relativ hohen Konzentrationen in der Probe enthalten. Sie werden daher auch als Nebenkomponten auf Hauptwirkstoffebene bezeichnet. Es handelt sich nicht um Spurenverunreinigungen. Ebenfalls in Heroinproben enthalten sind Coffein und Paracetamol. Diese werden den Heroinproben immer in ähnlichen Mischungsverhältnissen zugesetzt. Daher sind sie in diesem Fall als Targetkomponenten für den Materialvergleich nicht geeignet. Der Materialvergleich von Heroin wird meist nur auf der Hauptwirkstoffebene durchgeführt, das heißt die Nebenkomponten auf Hauptwirkstoffebene werden als Targetkomponenten verwendet. Abbildung 8.1 zeigt die Massenspuren der in dieser Arbeit verwendeten Targetkomponenten (Nebenkomponten auf Hauptwirkstoffebene) für den Heroinmaterialvergleich.

Auch Kokainproben enthalten Substanzen, die als Nebenprodukte bei der Herstellung des Hauptwirkstoffs Kokain entstehen (Nebenkomponten auf der Hauptwirkstoffebene). Sie sind ebenso in relativ hohen Konzentrationen in der Probe enthalten (keine Spurenverunreinigungen) und werden als Targetkomponenten für den Kokain-Materialvergleich auf Hauptwirkstoffebene verwendet. Ebenfalls in Kokainproben enthalten sind Zusätze wie Levamisol, Procain oder Lidocain. Die Zusätze in Kokainproben variieren in Art und Konzentration und sind daher in diesem Fall als Targetkomponenten für den Materialvergleich geeignet. Der Materialvergleich durch Vergleich der Zusätze und des Kokains selbst wird als Materialvergleich auf Hauptkomponentenebene bezeichnet. Abbildung 8.2 zeigt die Massenspuren der in dieser Arbeit verwendeten Targetkomponenten für den Kokainmaterialvergleich. Hierbei handelt es sich sowohl um Nebenkomponten auf Hauptwirkstoffebene (Wirkstoffe), die für den Materialvergleich auf der Hauptwirkstoffebene herangezogen wurden, als auch um Zusätze, die neben Kokain zum Materialvergleich auf der Hauptkomponentenebene herangezogen wurden.

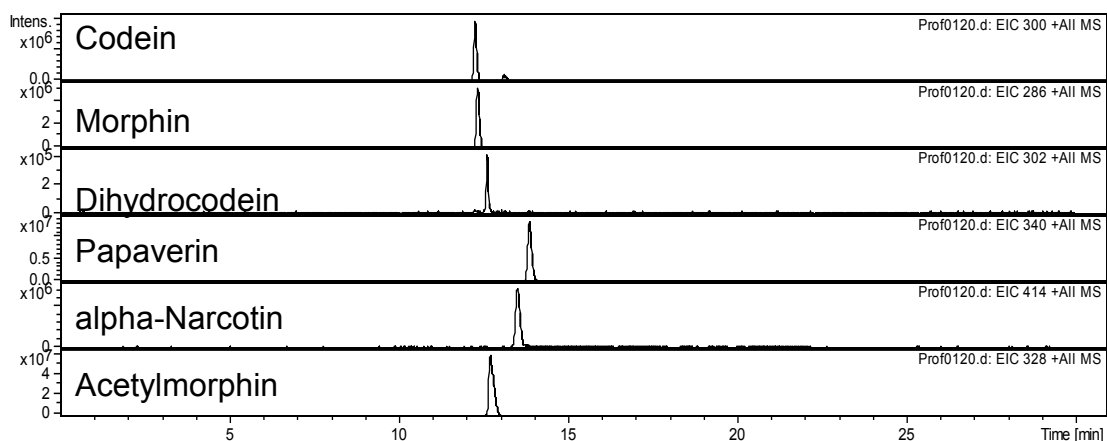


Abbildung 8.1: Achirale Trennung der Wirkstoffe in Heroin
Trennbedingungen: Injektion: 6s bei 30 mbar; Kapillare: Länge: 70 cm, Innendurchmesser: 50 μ m; Temperatur: 20 $^{\circ}$ C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 100 mmol/L Ameisensäure + 10 % Isopropanol;
Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 μ L/min; Nebulizerdruck: 4 psi; Trockengastemperatur: 250 $^{\circ}$ C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 350 m/z

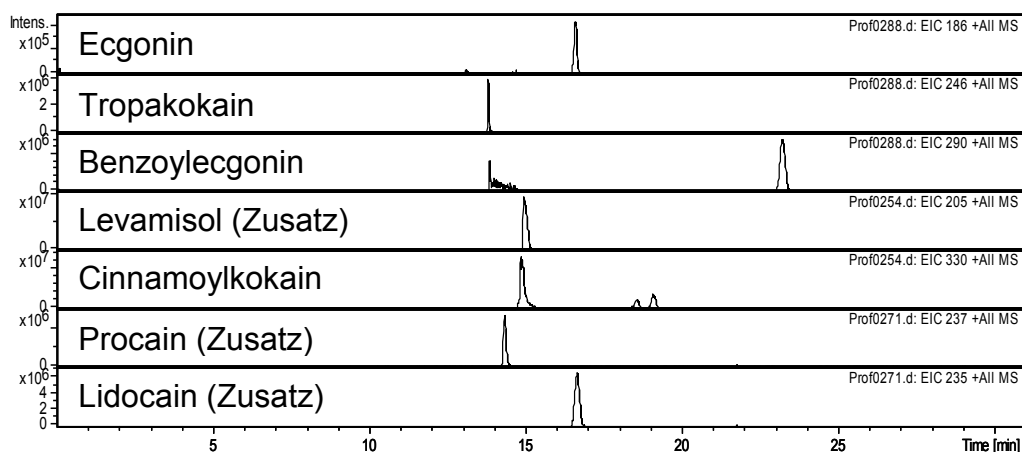


Abbildung 8.2: Achirale Trennung der Wirkstoffe und Zusätze in Kokain
 Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

8.2.1 Chemometrische Auswertung für Heroinproben

Im Folgenden wird zunächst auf Reproduzierbarkeitsprobleme und deren mögliche Lösung eingegangen und anschließend werden die Ergebnisse des Materialvergleichs sichergestellter Heroinproben mittels CE-ESI-MS dargestellt.

8.2.1.1 Reproduzierbarkeit

Da die Targetkomponenten für den Materialvergleich quantifiziert werden, ist die Reproduzierbarkeit der Peakflächen dieser Analyte von Bedeutung. Bei der Verwendung von CE-ESI-MS-Methoden hat man allgemein mit Reproduzierbarkeitsproblemen zu kämpfen, da die Ionenbildung im Elektrospray nur begrenzt reproduzierbar ist. Daraus resultieren verhältnismäßig hohe relative Standardabweichungen der Peakflächen. Eine mögliche Lösung des Problems wäre die Quantifizierung jeder für den Materialvergleich verwendeten Targetkomponente über deuterierte Standards. Diese sind jedoch sehr teuer und nicht für jede Targetkomponente erhältlich. Daher wurde hier eine Verbesserung der Reproduzierbarkeit der Peakfläche durch Normierung auf die Summe der Peakflächen aller verwendeten Targetkomponenten angestrebt. Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit der Peakflächen wurde eine Heroinrealprobe acht Mal unter gleichen Bedingungen mit der oben beschriebenen CE-ESI-MS-Methode gemessen und die Peakflächen der Targetkomponenten bestimmt. Es wurde eine Realprobe verwendet, da der Materialvergleich ebenfalls an Realproben erfolgt. Diese Probe enthält als Targetkomponenten alpha-Narcotin, Papaverin, Morphin und Acetylmorphin. Die relativen Standardabweichungen der Peakflächen dieser Komponenten wurden berechnet und sind in Tabelle 8.1 dargestellt. Ebenso sind dort die relativen Standardabweichungen für die Peakflächen normiert auf die Summe aller Targetpeakflächen angegeben.

Tabelle 8.1: Relative Standardabweichungen der Peakflächen unnormiert und normiert auf die Summe aller Flächen

Analyt	RSD unnormiert [%]	RSD normiert [%]
Morphin	9,28	3,88
Papaverin	10,61	5,77
Alpha-Narcotin	7,16	0,98
Acetylmorphin	7,85	3,36

Die Reproduzierbarkeit der Peakflächen kann durch die Normierung auf die Summe aller Peakflächen deutlich verbessert werden. Papaverin hat mit 10,61 % beziehungsweise 5,77 % die höchste relative Standardabweichung.

Es wurde nun mit den erhaltenen CE-ESI-MS-Datensätzen dieser acht Reproduzierbarkeitsmessungen eine Hauptkomponentenanalyse unter Verwendung der Software ProfileAnalysis durchgeführt. Hierfür wurden nur die Massenspuren der

Targetkomponenten (286, 340, 414, 328) über den Zeitraum der gesamten Messung betrachtet (0 bis 30 Minuten). Für jeden CE-ESI-MS-Datensatz wurden also jeweils 150 Bereiche (Buckets) betrachtet. Die Intensitäten der einzelnen Buckets wurden jeweils auf die Summe aller Intensitäten normiert. In der Abbildung 8.3 sind links der Scores-Plot und rechts der Loadings-Plot der resultierenden PCA dargestellt.

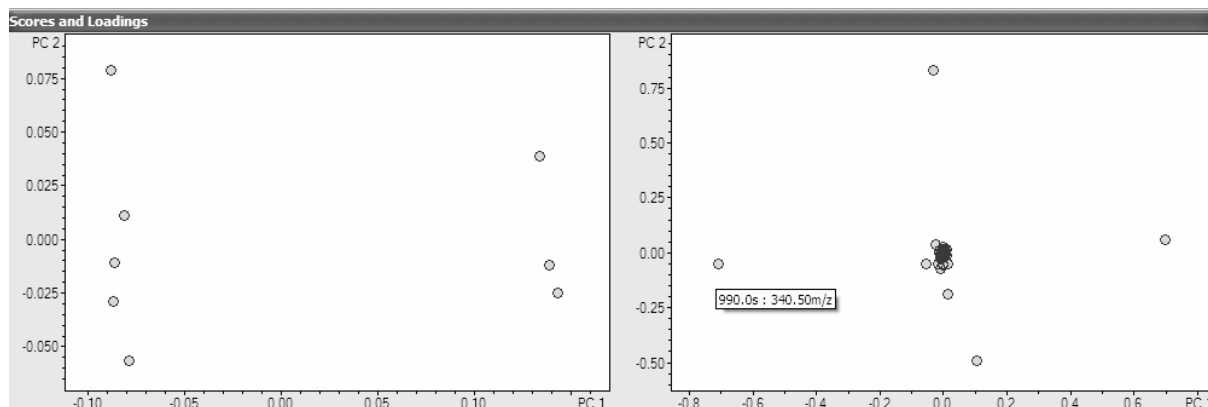


Abbildung 8.3: Scores- und Loadings-Plot der PCA für 8 Messungen einer identischen Probe am selben Tag Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

Im Scores-Plot repräsentiert jeder Punkt eine Probe. Eine deutliche Unterteilung der Proben in zwei Gruppen ist erkennbar, obwohl es sich um identische Proben handelt. Ein Grund für diese Gruppierung könnte die chemische Instabilität und somit hohe Varianz mancher Targetkomponenten sein. Diese sind aufgrund dessen dann ungeeignet für die quantitative Profilanalyse. Mit Hilfe der Software ProfileAnalysis ist es möglich, solche Komponenten anhand des Loadings-Plots zu identifizieren. Im Loadings-Plot repräsentiert jeder Punkt ein Bucket. Jedes Bucket ist einer Massenspür und einer Migrationszeit mit einer Spanne von 60 Sekunden zugeordnet. Die am weitesten außen liegenden Punkte haben die höchste Varianz und entsprechen in Abbildung 8.3 dem Bucket mit der Massenspür 340,5 m/z und der Migrationszeit von 985 bis 995 Sekunden. Dieses Bucket repräsentiert die Targetkomponente Papaverin. Diese Komponente hat auch im Vergleich zu den anderen die höchste relative Standardabweichung der Peakflächen (6 %).

Abbildung 8.4 zeigt noch einmal das Ergebnis der PCA für acht Messungen einer identischen Heroinprobe an einem Tag. Die Peakflächen der Targetkomponenten sind wiederum normiert auf die Summe der Intensitäten aller Targetkomponenten. Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 8.5 ebenfalls das Ergebnis der PCA für dieselben acht Messungen einer identischen Heroinprobe an einem Tag. Die Peakflächen der Targetkomponenten sind wiederum normiert auf die Summe der Intensitäten aller Targetkomponenten, jedoch wurde

Papaverin aus der Betrachtung herausgenommen. Die ursprüngliche Einteilung der Proben in zwei Gruppen existiert nicht mehr.

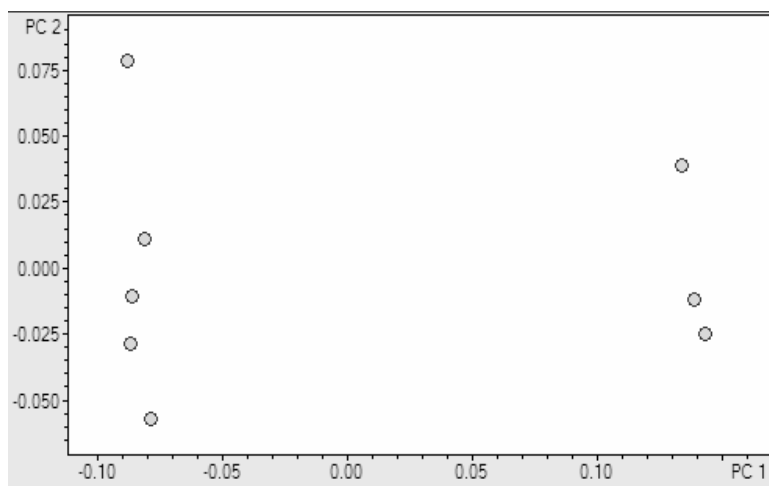


Abbildung 8.4: PCA mit Papaverin
Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

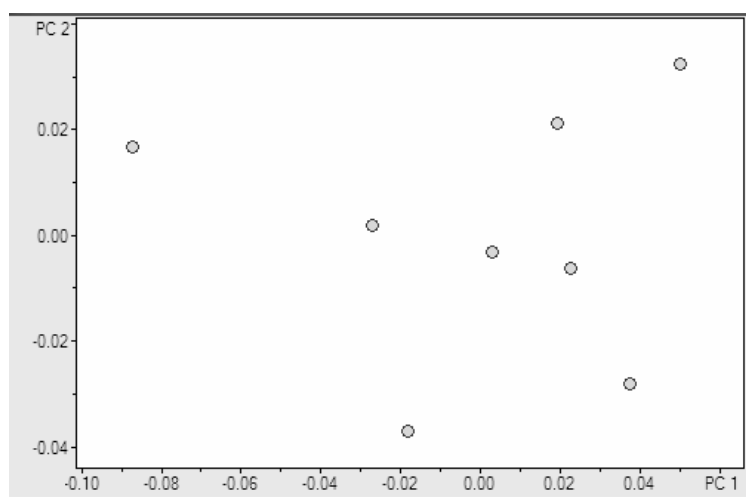


Abbildung 8.5: PCA ohne Papaverin
Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

Die Ergebnisse der zu Beginn durchgeführten Berechnung der relativen Standardabweichungen der Peakflächen der verwendeten Targetkomponenten spiegeln sich in der von der Software ProfileAnalysis durchgeführten Hauptkomponentenanalyse wider. Dort lässt sich erkennen, dass die Komponente mit der höchsten Standardabweichung (Papaverin) für die nicht gewollte Gruppierung verantwortlich ist.

8.2.1.2 Materialvergleich

Um nun einen Materialvergleich durchführen zu können, wurden Heroinproben ausgewählt, die bereits unter Verwendung einer in der Routine für den Materialvergleich von Heroin eingesetzten GC-Methode analysiert worden waren [70]. Aufgrund dieser Analyse ließen sich die Proben in drei Chargen einteilen. Diese Chargen werden im Folgenden als Charge 1, Charge 2 und Charge 3 bezeichnet. Die Einteilung erfolgte aufgrund unterschiedlicher Konzentrationen an alpha-Narcotin, Papaverin und Acetylmorphin in den Proben. Codein war in keiner der Proben enthalten.

Die Proben wurden wie in Abschnitt 8.1 beschrieben, analysiert. Papaverin wurde aufgrund der hohen Standardabweichung bei den Reproduzierbarkeitsmessungen nicht mehr als Targetkomponente verwendet. Für die Erstellung der PCA wurden nur die Massenspuren der Targetkomponenten Codein, Morphin, Dihydrocodein, alpha-Narcotin und Acetylmorphin (300, 286, 302, 414, 328) über den Zeitraum der gesamten Messung betrachtet (0 bis 30 Minuten). Die Intensitäten der einzelnen Buckets wurden jeweils auf die Summe aller Intensitäten normiert. In der Abbildung 8.6 sind links der Scores-Plot und rechts der Loadings-Plot der resultierenden PCA dargestellt. Die Proben der Charge 1 wurden hellblau, die Proben der Charge 2 dunkelblau und die Proben der Charge 3 rot dargestellt.

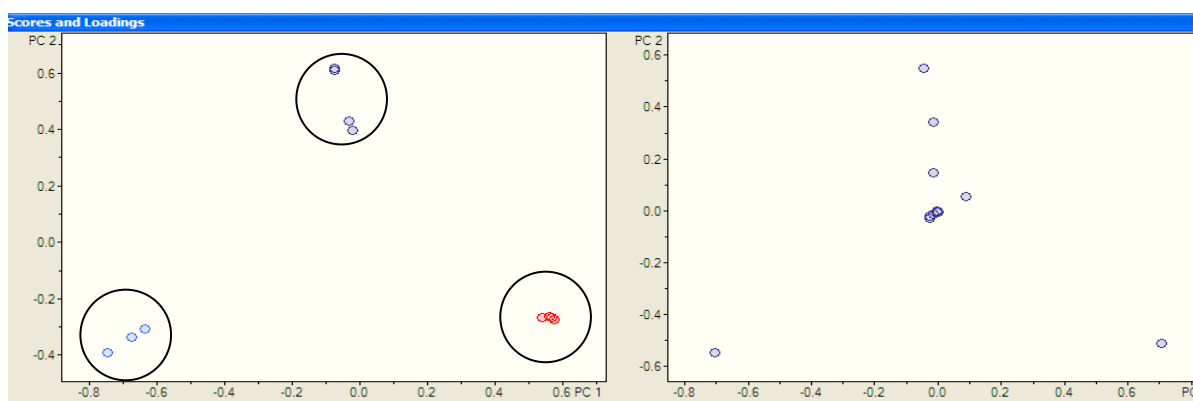


Abbildung 8.6: Scores- und Loadings-Plot für Heroinproben der Chargen 1-3
Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

Der Scores-Plot in Abbildung 8.6 zeigt die aus der Hauptkomponentenanalyse resultierende Probeneinteilung. Diese ist identisch mit der Einteilung in die Chargen 1, 2 und 3. Im Loadings-Plot repräsentiert wieder jeder Punkt ein Bucket und jeder Bucket ist wiederum einer Massenspur und einer Migrationszeit mit einer Spanne von 60 Sekunden zugeordnet. Die am weitesten vom Zentrum entfernten Punkte haben die höchste Varianz und entsprechen

in Abbildung 8.6 den Komponenten alpha-Narcotin und Acetylmorphin. Diese beiden Targetkomponenten leisten folglich den höchsten Beitrag zur Unterscheidung der Proben.

8.2.2 Chemometrische Auswertung für Kokainproben

Im Folgenden ist nun der Materialvergleich von illegalen Kokainproben dargestellt. Zunächst erfolgte der Materialvergleich auf der Hauptwirkstoffebene, das heißt die NebenkompONENTEN auf der Ebene des Hauptwirkstoffes wurden für den Materialvergleich herangezogen. Im Vergleich dazu erfolgte der Materialvergleich zusätzlich auf der Hauptkomponentenebene, das heißt auf der Ebene des Hauptwirkstoffes (Kokain selbst) und der Zusätze. Dies sind zwei unterschiedliche Herangehensweisen, da einmal der Hauptwirkstoff Kokain anhand der Nebenprodukte aus der Synthese verglichen wird und einmal die Zusätze und die Menge des Kokains in der fertigen Kokainprobe.

8.2.2.1 Materialvergleich auf Hauptwirkstoffebene

Für den Materialvergleich von Kokain wurden jeweils drei Realproben aus drei verschiedenen Sicherstellungen untersucht. Die Proben aus der ersten Sicherstellung werden im Folgenden als Charge 1 bezeichnet, die Proben aus der zweiten Sicherstellung als Charge 2 und die Proben aus der dritten Sicherstellung als Charge 3. Für den Materialvergleich auf der Hauptwirkstoffebene werden nur die Wirkstoffe betrachtet und keine Verschnittstoffe und Zusätze. Bei den Targetkomponenten handelte es sich daher um Ecgonin, Cinnamoylkokain, Tropakokain und Benzoylecgonin. Die Proben wurden wie in Abschnitt 8.1 beschrieben, analysiert. Für die Erstellung der PCA wurden nur die Massenspuren der Targetkomponenten Ecgonin, Cinnamoylkokain, Tropakokain und Benzoylecgonin (186, 330, 246, 290) über den Zeitraum der gesamten Messung betrachtet (0 bis 30 Minuten). Die Intensitäten der einzelnen Buckets wurden wiederum jeweils auf die Summe aller Intensitäten normiert. In der Abbildung 8.7 sind links der Scores-Plot und rechts der Loadings-Plot der resultierenden PCA dargestellt. Die Proben der Charge 1 wurden dunkelblau, die Proben der Charge 2 grün und die Proben der Charge 3 rot dargestellt.

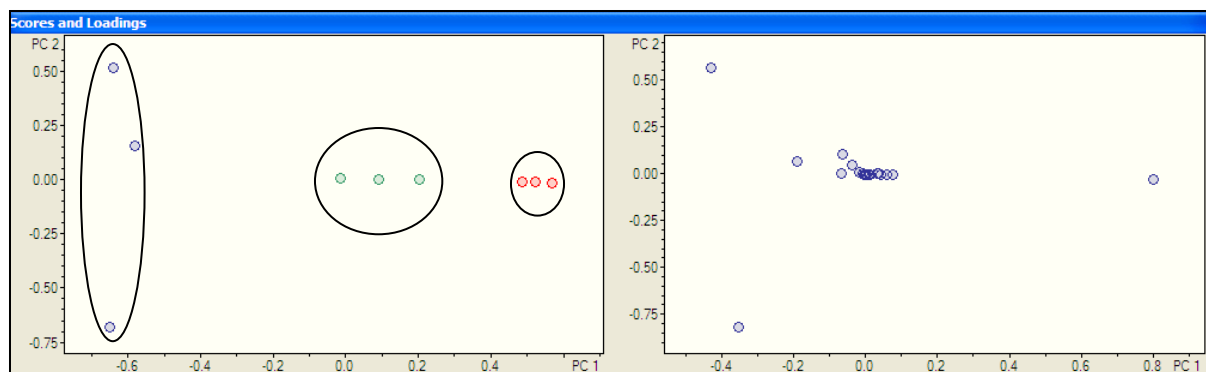


Abbildung 8.7: Scores-und Loadings-Plot für Kokainproben der Chargen 1-3: Materialvergleich auf Hauptwirkstoffebene (Nebenkomponenten)
Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

Der Scores-Plot in Abbildung 8.7 zeigt die aus der Hauptkomponentenanalyse resultierende Probeneinteilung. Diese ist auch hier identisch mit der Einteilung in die Chargen 1, 2 und 3. Der Loadings-Plot zeigt wiederum die Targetkomponenten mit der höchsten Varianz an. In diesem Fall handelt es sich um Cinnamoylkokain und Tropakokain.

8.2.2.2 Materialvergleich auf Hauptkomponentenebene

Für den Materialvergleich auf der Hauptkomponentenebene werden nur Kokain selbst sowie die Zusätze betrachtet. Bei den Targetkomponenten handelte es sich daher um Levamisol, Lidocain, Procain und Kokain. Für die Erstellung der PCA wurden die gleichen CE-ESI-MS-Datensätze wie für den Materialvergleich auf der Hauptwirkstoffebene verwendet. Allerdings wurden diesmal nur die Massenspuren der Targetkomponenten Levamisol, Lidocain, Procain und Kokain (205, 235, 237, 304) über den Zeitraum der gesamten Messung betrachtet (0 bis 30 Minuten). Die Intensitäten der einzelnen Buckets wurden wiederum jeweils auf die Summe aller Intensitäten normiert. Abbildung 8.8 zeigt den resultierenden Scores- und Loadings-Plot des Kokain-Materialvergleichs auf Hauptkomponentenebene.

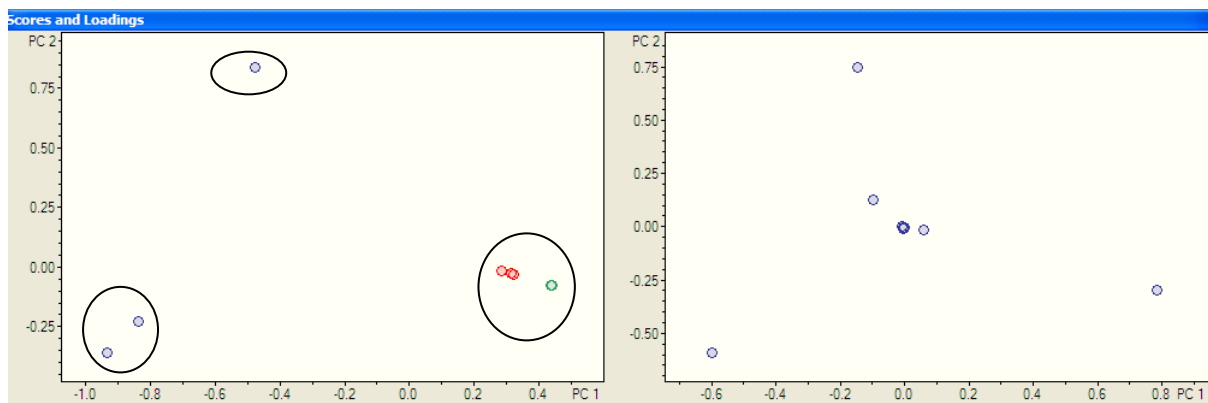


Abbildung 8.8: Scores- und Loadings-Plot für Kokainproben der Chargen 1-3: Materialvergleich auf Hauptkomponentenebene (Zusätze + Kokain)
Messbedingungen wie in Abbildung 8.1

Der Scores-Plot zeigt wiederum die Probeneinteilung. Es handelt sich um die gleichen neun Proben, wie im Abschnitt 8.2.2.1, allerdings liegen die Punkte teilweise übereinander, daher sind nur sechs Stück zu erkennen. Die ursprüngliche Probeneinteilung nach Charge 1, 2, und 3 ist nicht mehr vorhanden. Der Loadings-Plot zeigt wiederum die Targetkomponenten mit der höchsten Varianz an. In diesem Fall handelt es sich um Kokain, gefolgt von Levamisol. Die Probeneinteilung erfolgt hier also aufgrund unterschiedlicher Kokainkonzentrationen und unterschiedlicher Konzentrationen an Zusätzen (Levamisol) in der Probe.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es möglich ist, unterschiedliche Chargen von sowohl Heroin- als auch Kokainproben, die mit der achiralen CE-ESI-MS-Methode unter Anwendung der Software ProfileAnalysis untersucht wurden, zu unterscheiden. Die Software führt eine Hauptkomponentenanalyse durch, ohne dass eine vorherige manuelle Bestimmung der Peakflächen der Targetkomponenten notwendig ist. Die daraus resultierende Zeitersparnis kann Vorteile bei der Routineanalytik bringen.

9 Zusammenfassung

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Synthesebedingungen bei der Herstellung von MDMA-Hydrochlorid auf das Spurenverunreinigungsprofil des Endproduktes. Das Ergebnis dieser Arbeit zeigt, dass sowohl die Änderung der Reaktionstemperatur als auch die Verwendung unterschiedlicher Edukt-Chargen einen großen Einfluss auf das resultierende Spurenverunreinigungsprofil des Endproduktes haben. Bei Verwendung der für die international genutzte harmonisierte GC-MS-Methode vorgesehenen Targetkomponenten für den Materialvergleich von MDMA-Hydrochlorid ist eine präzise Einteilung aller Proben nach verwendeter Syntheseroute (unterschiedliche Reduktionsmittel) nicht mehr möglich, wenn sich die Reaktionstemperatur oder die Edukt-Charge ändert. Dies kann zu Missinterpretationen der Ergebnisse beim Materialvergleich führen. Auch konnte gezeigt werden, dass Änderungen der Fällungsbedingungen ebenfalls einen Einfluss auf die organischen Spurenverunreinigungsprofile haben. Dieser ist jedoch geringer als der Einfluss durch die Verwendung unterschiedlicher Reduktionsmittel. Die resultierenden Profilingergebnisse sind sehr stark von der Wahl der betrachteten Targetkomponenten abhängig.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit ist die Prüfung der Eignung von CE-DAD und CE-ESI-MS für den Materialvergleich verschiedener Rauschgifte. Die in dieser Arbeit optimierte und beschriebene chirale CE-ESI-MS-Methode eignet sich gut für die enantioselektive Bestimmung verschiedener Rauschgifte, Zusatzstoffe und Verunreinigungen. Enantioselektivität wurde durch Zugabe von Cyclodextrinen zum Laufpuffer erreicht. Diese CE-ESI-MS-Methode eignet sich ebenfalls für den Metamfetamin-Materialvergleich. Es ist möglich, unterschiedliche Chargen illegaler Metamfetaminzubereitungen zu unterscheiden indem die chiralen Verunreinigungen verglichen werden. Das in dieser Arbeit beschriebene CE-DAD-Verfahren wurde hier ebenfalls erfolgreich für den Materialvergleich von Yaba-Tabletten herangezogen, stieß aber im Hinblick auf Empfindlichkeit und Erfassbarkeit der Komponenten an seine Grenzen. Eine sichere Identifizierung der Spurenverunreinigungen ist nicht möglich. Das Analyseverfahren zur Identifizierung chiraler Spurenverunreinigungen mittels CE-ESI-MS hat die Identifizierungssicherheit und Empfindlichkeit der chiralen Analytik erheblich verbessert. Mit der in dieser Arbeit verwendeten achiralen CE-ESI-MS-Methode ist es möglich, unterschiedliche Chargen von sowohl Heroin- als auch Kokainproben durch Vergleich der Peakflächen der relevanten Targetkomponenten zu unterscheiden.

Hierbei handelt es sich um einen Materialvergleich anhand von Nebenkomponenten auf Hauptwirkstoffebene sowie anhand von Zusätzen. Die bereits mittels GC-basiertem Profilingverfahren festgestellten Gruppierungen der Proben konnten nachvollzogen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen die grundsätzliche Eignung der Kapillarelektrophorese gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion als Analyseverfahren für den organischen Materialvergleich von Betäubungsmitteln unterschiedlicher Substanzklassen, sowohl auf der Ebene der Haupt- und Nebenkomponenten, als auch auf der Ebene der Spurenverunreinigungen. Auch ist das Analyseverfahren sehr gut für die chirale Identifizierung einer breiten Palette an Betäubungsmitteln und Zusätzen geeignet.

10 Summary

3,4-Methylenedioxymethamphetamine-hydrochloride (MDMA-HCl) is typically the main active substance in Ecstasy tablets. In this work the influence of different reaction conditions (temperature, reaction time, pressure and chemical origin of precursor batch) on the organic impurity profiles of MDMA resulting from the reductive amination via PtO_2/H_2 was examined. The variation of the reaction temperature as well as the change of precursor batch has a large impact on the resulting impurity profile. By using the target compounds of the internationally applied harmonised profiling GC-MS method, an accurate classification of all samples derived from the same synthetic route (same reducing agent) was prevented due to the impact of the variation of reaction temperature or change of the precursor batch on the impurity profile. This can lead to misinterpretation of the profiling results. Variation of the conditions during the precipitation step has also influence on the organic impurity profiles of the end product, but less than the influence due to a change of the reducing agent. The profiling result strongly depends on the selected target compounds.

Most of the illicit drugs and some adulterants occur as optical isomers with different psychotropic activities. Especially for illicit methamphetamine and Ephedra alkaloid samples not only the enantioselective determination of the active substance but also the enantioselective determination of the chiral impurities is important for intelligence purposes with respect to the discrimination of different production batches. Therefore it is important to have a flexible and sensitive analytical method for the chiral separation and unambiguous identification of drugs and adulterants belonging to different families of compounds. In this work a CE-ESI-MS method was optimized which allows the chiral identification of different drugs, adulterants and impurities. Enantiomeric resolution was achieved by adding cyclodextrins to the running buffer. With the developed method it was also possible to discriminate between different batches of illicit methamphetamine samples by comparing their chiral impurities. The chiral CE-DAD method, which was described in this work, is also suitable for the discrimination between different batches of methamphetamine samples by comparing their chiral impurities, but this method has less sensitivity and an unambiguous identification of the trace components is not possible. The identification power and sensitivity of the chiral analysis was increased by using CE-ESI-MS.

In addition, an achiral CE-ESI-MS procedure was optimized for the chemical profiling of heroin and cocaine samples. Because of its high matrix tolerance, CE is often used for the

chemical profiling of heroin and cocaine. To obtain higher sensitivity and selectivity, capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry was applied in this work. The additives and by-products in several seized heroin and cocaine samples were analysed and quantified using this CE-ESI-MS-method. It was possible to discriminate between different batches of cocaine samples and different batches of heroin samples by comparing the additives and by-products. In comparison to the GC-MS methods routinely used for the chemical profiling of heroin and cocaine, no time consuming sample preparation is required when using the CE-ESI-MS method.

The results of this work show the suitability of capillary electrophoresis coupled with mass spectrometry as an analysis method for the organic profiling of a wide range of drugs of abuse. It was possible to discriminate between different batches of illicit drug samples by comparing the main active substance as well as the by-products, additives and impurities. The analysis method is also suitable for the chiral identification of a wide range of drugs and adulterants.

11 Literaturverzeichnis

- [1] P. Cobb, "Forensic Science," in *Crime Scene to Court - The Essentials of Forensic Science*, P. White, Ed., Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1998, pp. 1-14.
- [2] M. Cole, "Drugs of Abuse," in *Crime Scene to Court - The Essentials of Forensic Science*, P. White, Ed., Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1998, pp. 210-231.
- [3] M. van Deursen, E. R. A. Lock und A. J. Poortman-van der Meer, „Organic impurity profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets seized in the Netherlands,“ *Science and Justice*, Bd. 46, Nr. 3, p. 135, 2006.
- [4] R. Marquis, C. Weyermann und et al., „Drug intelligence based on MDMA tablets data 2. Physical characteristics profiling,“ *Forensic Science International*, Bd. 178, Nr. 1, pp. 34-39, 2008.
- [5] D. M. Northrop, „The Utility of Capillary Electrophoresis in Forensic Science,“ *Chromatographic Science*, Bd. 64, pp. 673-691, 1993.
- [6] C. Huhn, Optimierung von Probeninjektion und Trennung in der Kapillarelektrophorese, der micellaren elektrokinetischen Chromatographie und der Säulenkopplung Isotachophorese-Kapillarelektrophorese zur Analyse komplexer Proben in der forensischen Analytik, Dissertation, Marburg, 2007.
- [7] C. Huhn, M. Pütz, N. Martin, R. Dahlenburg und U. Pyell, „Determination of tryptamine derivatives in illicit synthetic drugs by capillary electrophoresis and ultraviolet laser-induced fluorescence detection,“ *Electrophoresis*, Bd. 26, pp. 2391-2401, 2005.
- [8] H. A. S. Buchanan, N. N. Daéid, W. J. Kerr, J. F. Carter und J. C. Hill, „Role of five synthetic reaction conditions on the stable isotopic composition of 3,4-methylenedioxymethamphetamine,“ *Analytical Chemistry*, Bd. 82, Nr. 13, pp. 5484-5489, 2010.
- [9] H. A. S. Buchanan, W. J. Kerr, W. Meier-Augenstein und N. N. Daéid, „Organic impurities, stable isotopes, or both: A comparison of instrumental and pattern recognition techniques for the profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine,“ *Analytical Methods*, Bd. 3, pp. 2279-2288, 2011.
- [10] S. Dieckmann, Enantiomerentrennung von beta-Phenylethylaminen mittels Kapillarelektrophorese unter Verwendung dynamisch beschichteter Kapillaren, Diplomarbeit, TU-Darmstadt, 2004.
- [11] F. Sadeghipour, E. Varesio, C. Giroud, L. Rivier und J. L. Veuthey, „Analysis of amphetamines by capillary electrophoresis and liquid chromatography: Application to drug seizures and cross-validation,“ *Forensic Science International*, Bd. 86, Nr. 1-2, pp. 1-13, 1997.
- [12] R. Dahlenburg, Unterrichtsmaterial des BKA/KT 34, Wiesbaden.
- [13] K. A. Kovar, „Chemistry and Pharmacology of Hallucinogens, Entactogens and Stimulants,“ *Pharmacopsychiat*, Bd. 31, pp. 69-72, 1998.
- [14] Y. T. Iwata, A. Garcia, T. Kanamori, H. Inoue, T. Kishi und I. S. Lurie, „The use of a highly sulfated cyclodextrin for the simultaneous chiral separation of amphetamine type stimulants by capillary electrophoresis,“ *Electrophoresis*, Bd. 23, pp. 1328-1334, 2002.
- [15] A. S. Liau, J. Liu, L. C. Lin, Y. C. Chiu, Y. R. Shu, C. C. Tsai und C. H. Lin, „Optimization of a simple method for the chiral separation of methamphetamine and related compounds in clandestine tablets and urine samples by beta-cyclodextrin modified capillary electrophoresis: a complementary method to GC-MS,“ *Forensic*

- Science International*, Bd. 134, pp. 17-24, 2003.
- [16] I. S. Lurie, R. F. X. Klein, T. A. Dal Cason, M. J. LeBelle, R. Brenneisen und R. E. Weinberger, „Chiral resolution of Cationic Drugs of Forensic Interest by Capillary Electrophoresis with Mixtures of Neutral and Anionic Cyclodextrins“, *Analytical Chemistry*, Bd. 66, Nr. 22, pp. 4019-4026, 1994.
- [17] I. S. Lurie, N. G. Odeneal II, T. D. McKibben und J. F. Casale, „Effects of various anionic chiral selectors on the capillary electrophoresis separation of chiral phenethylamines and achiral neutral impurities present in illicit methamphetamine“, *Electrophoresis*, Bd. 19, Nr. 16-17, pp. 2918-2925, 1998.
- [18] C. Rätsch, Enzyklopädie der psychoaktiven Pflanzen (Botanik, Ethnopharmakologie und Anwendung), AT Verlag, 1998, pp. 228-230.
- [19] United Nations, „UNODC world drug report 2009“, 2009. [Online]. Available: http://www.unodc.org/documents/wdr/WDR_2009/WDR2009_eng_web.pdf.
- [20] A. J. Poortman-van der Meer, „Presentation during the meeting of ENFSI WG Drugs in Oslo“, 2002.
- [21] Thieme Verlagsgruppe, „Roempp“, [Online]. Available: <http://www.roempp.com>.
- [22] B. Ahrens, *Aussehen, Herstellung und Wirkung von Betäubungsmitteln*, Bundeskriminalamt - Kriminaltechnisches Institut, 2010.
- [23] P. Gimeno, F. Besacier, A. Bottex, L. Dujourdy und H. Chaudron-Thozet, „A study of impurities in intermediates and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) samples produced via reductive amination routes“, *Forensic Science International*, Bd. 155, Nr. 2-3, pp. 141-157, 2005.
- [24] United Nations, „Drug Characterization/Impurity Profiling-Background and Concepts“, 2001. [Online]. Available: <http://www.unodc.org/pdf/publications/st-nar-32rev1.pdf>.
- [25] R. J. Renton, J. S. Cowie und M. C. Oon, „A study of the precursors, intermediates and reaction by-products in the synthesis of 3,4-methylenedioxymethylamphetamine and its application to forensic drug analysis“, *Forensic Science International*, Bd. 60, Nr. 3, pp. 189-202, 1993.
- [26] F. Tagliaro und F. P. Smith, „Forensic capillary electrophoresis“, *Trends in Analytical Chemistry*, Bd. 15, Nr. 10, pp. 513-524, 1996.
- [27] S. Dieckmann, M. Pütz und R. Dahlenburg, „Chiral profiling of illicit methamphetamine samples by capillary electrophoresis“, *Tagungsband XIV. GTFCh-Symposium Praxis der forensischen Toxikologie, 14.-16. April 2005 in Mosbach (Baden), Deutschland*, Bd. XIV, pp. 225-235, April 2006.
- [28] H. Inoue, T. Kanamori, Y. T. Iwata, Y. Ohmae, K. Tsujikawa, S. Saitoh und T. Kishi, „Methamphetamine impurity profiling using a 0.32 mm i.d. nonpolar capillary column“, *Forensic Science International*, Bd. 135, pp. 42-47, 2003.
- [29] G. Schomburg, Gaschromatographie, Weinheim: VCH, 1987.
- [30] D. A. Skoog und J. J. Leary, Instrumentelle Analytik : Grundlagen - Geräte - Anwendungen, 4.Auflage Hrsg., Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1996.
- [31] H. Engelhardt, W. Beck und T. Schmitt, Kapillarelektrophorese-Methoden und Möglichkeiten, F. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden, 1994.
- [32] S. Fanali, „Enantioselective determination by capillary electrophoresis with cyclodextrins as chiral selectors“, *Journal of Chromatography A*, Bd. 875, pp. 89-122, 2000.
- [33] Y. J. Heo, Y. S. Whang, M. K. In und K. J. Lee, „Determination of enantiomeric amphetamines as metabolites of illicit amphetamine and selegiline in urine by capillary

- electrophoresis using modified beta-cyclodextrin," *Journal of Chromatography B*, Bd. 741, pp. 221-230, 2000.
- [34] Bruker Daltonik GmbH, HCT / esquire Series User Manual, Version 1.0 (Volume 1 Theory), 2004.
- [35] M. Otto, *Chemometrics - Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*, 2. Hrsg., Weinheim: Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- [36] T. Kohles, *Analytische Charakterisierung von verschieden synthetisierten 3,4-Methylenedioxyamphetaminen Ph.D. Thesis*, Eberhard-Karls University Tübingen, Germany, 2005.
- [37] S. Kromidas, *Validierung in der Analytik*, Wiley-VCH Verlag, 1999.
- [38] C. Weyermann, R. Marquis, C. Delaporte, P. Esseiva, E. Lock, L. Aalberg, J. S. Bozenko, S. Dieckmann, L. Dujourdy und F. Zrcek, „Drug intelligence based on MDMA tablets data - I. Organic impurities profiling," *Forensic Science International*, Bd. 177, Nr. 1, pp. 11-16, 2008.
- [39] L. Dujourdy, V. Dufey, F. Besacier, N. Miano, R. Marquis, E. Lock, L. Aalberg, S. Dieckmann, F. Zrcek und J. S. Bozenko Jr., „Drug intelligence based on organic impurities in illicit MA samples," *Forensic Science International*, Nr. 177(2-3), pp. 153-61, 2008.
- [40] K. Danzer, H. Hobert, C. Fischbacher und K.-U. Jagemann, *Chemometrik: Grundlagen und Anwendungen*, Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2001.
- [41] R. Schlittgen, *Multivariate Statistik*, München: Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH, 2009.
- [42] M. Schäffer, *Development of a method for the impurity profiling of MDMA extracts based on GCxGC-TOFMS - Masterarbeit*, Universität Augsburg, 2009.
- [43] A. M. A. Verweij, „Clandestine manufacture of 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine (MDMA) by low pressure reductive amination. A mass spectrometric study of some reaction mixtures," *Forensic Science International*, Bd. 45, Nr. 1-2, pp. 91-96, 1990.
- [44] F. T. Noggle, C. R. Clark und J. DeRuite, „Gas chromatographic and mass spectrometric analysis of samples from clandestine laboratory involved in the synthesis of ecstasy from sassafras oil," *Journal of Chromatographic Science*, Bd. 29, Nr. 4, pp. 168-173, 1991.
- [45] A. M. A. Verweij, „Impurities in Illicit Drug Preparations: 3,4-(Methylenedioxy)amphetamine and 3,4-(Methylenedioxy)methylamphetamine," *Forensic Science Review*, Bd. 4, pp. 137-146, 1992.
- [46] P. Gimeno, F. Besacier, H. Chaudron-Thozet, J. Girard und A. Lamotte, „A contribution to the chemical profiling of 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine (MDMA) tablets," *Forensic Science International*, Bd. 127, Nr. 1-2, pp. 1-44, 2002.
- [47] F. Palhol, s. Boyer, N. Naulet und M. Chabrilat, „Impurity profiling of seized MDMA tablets by capillary gas chromatography," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Bd. 374, Nr. 2, pp. 274-281, 2002.
- [48] W. C. Cheng, N. L. Poon und M. F. Chan, „Chemical profiling of 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine (MDMA) tablets seized in Hong Kong," *Journal of Forensic Sciences*, Bd. 48, Nr. 6, pp. 1249-1259, 2003.
- [49] J. Y. K. Cheng, M. F. Chan und et al., „Impurity profiling of ecstasy tablets seized in Hong Kong by gas chromatography-mass spectrometry," *Forensic Science International*, Bd. 162, Nr. 1-3, pp. 87-94, 2006.
- [50] M. Świst, J. Wilamowski und A. Parczewski, „Basic and neutral route specific impurities in MDMA prepared by different synthesis methods - Comparison of impurity profiles,"

- Forensic Science International*, Bd. 155, Nr. 2-3, pp. 100-111, 2005.
- [51] M. Świst, J. Wilamowski, D. Zuba, J. Kochana und A. Parczewski, „Determination of synthesis route of 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propanone (MDP-2-P) based on impurity profiles of MDMA,“ *Forensic Science International*, Bd. 149, Nr. 2-3, pp. 181-192, 2005.
- [52] CHAMP, Final Scientific Report Collaborative Harmonisation of Methods for Profiling of Amphetamine Type Stimulants CHAMP CIS8-CT-2004-502126, 2007.
- [53] M. Schäffer, S. Dieckmann, M. Pütz, T. Kohles, U. Pyell und R. Zimmermann, „Impact of reaction parameters on the chemical profile of 3,4-methylenedioxymethamphetamine synthesized via reductive amination: Target analysis based on GC-qMS compared to non-targeted analysis based on GC x GC-TOF-MS,“ *Forensic Science International*, Bd. 233, Nr. 1-3, pp. 201-211, 2013.
- [54] R. Iio, S. Chinaka, N. Takayama und K. Hayakawa, „Simultaneous Chiral Analysis of Methamphetamine and its Metabolites by Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry with Direct Injection of Urine,“ *Journal of Health Science*, Bd. 51, Nr. 6, pp. 693-701, 2005.
- [55] R. Iio, S. Chinaka, N. Takayama und K. Hayakawa, „Simultaneous Chiral Analysis of Methamphetamine and Related Compounds by Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry Using Anionic Cyclodextrins,“ *Analytical sciences*, Bd. 21, pp. 15-19, 2005.
- [56] L. Geiser, S. Cherkaoui und J.-L. Veuthey, „Simultaneous analysis of some amphetamine derivatives in urine by nonaqueous capillary electrophoresis coupled to electrospray ionization mass spectrometry,“ *Journal of Chromatography A*, Bd. 895, pp. 111-121, 2000.
- [57] S. Dieckmann, M. Pütz und U. Pyell, „Enantiomeric identification of chiral drugs, adulterants and impurities by capillary electrophoresis-ESI-mass spectrometry,“ in *Tagungsband XV. GTFCh-Symposium Praxis der forensischen Toxikologie, 18.-21. April 2007 in Mosbach (Baden), Deutschland*, Herausgeber: Pragst F, Aderjan R., Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie, Bad Vilbel, Deutschland, 2008, pp. 509-520.
- [58] A. M. M. Valentino und K. Fuentecilla, „Levamisole: An Analytical Profile,“ *Microgram Journal*, Bd. 3, Nr. 3-4, pp. 134-137, 2005.
- [59] T. Schöpke, „Bitterorangenschale - Aurantii amari epicarpium et mesocarpium,“ 2004. [Online]. Available: <http://www.pharmakobotanik.de/systematik/6droge-f/aurant-p.htm>. [Zugriff am 23.11.2005].
- [60] K. Putzbach, C. A. Rimmer, K. E. Sharpless und L. C. Sander, „Determination of Bitter Orange alkaloids in dietary supplements standard reference materials by liquid chromatography with ultraviolet absorbance and fluorescence detection,“ *Journal of Chromatography A*, Bd. 1156, Nr. 1-2, pp. 304-311, 2007.
- [61] H.-J. Gaus, Z. Z. Göğüs, K. Schmeer, B. Behnke, K.-A. Kovar und E. Beyer, „Separation and identification of designer drugs with capillary electrophoresis and on-line connection with electrospray mass spectrometry,“ *Journal of Chromatography A*, Bd. 735, pp. 221-226, 1996.
- [62] C. Koper, E. Ali-Tolppa, J. S. Bozenko Jr., V. Dufey, M. Pütz, C. Weyermann und F. Zrcek, „Identification of a New Amphetamine Type Stimulant: 3,4-Methylenedioxy-N-(2-hydroxyethyl)amphetamine (MDHOET),“ *Microgram Journal*, Bd. 3, Nr. 3-4, pp. 166-174, 2005.
- [63] F. M. Dayrit und M. C. Dumlaog, „Impurity profiling of methamphetamine hydrochloride

-
- drugs seized in the Philippines," *Forensic Science International*, Bd. 144, pp. 29-36, 2004.
- [64] B. Remberg und A. H. Stead, „Drug characterization/impurity profiling, with special focus on methamphetamine: recent work of the united nations international drug control programme," *Bulletin on Narcotics*, Bd. LI, Nr. 1-2, pp. 97-117, 1999.
- [65] M. Perkal, Y. L. Ng und J. R. Pearson, „Impurity profiling of methylamphetamine in Australia and the development of a national drugs database," *Forensic Science International*, Bd. 69, Nr. 1, pp. 77-87, 1994.
- [66] T. Inoue, K. Tanaka, T. Ohmori, Y. Togawa und S. Seta, „Impurity profiling analysis of methamphetamine seized in Japan," *Forensic Science International*, Bd. 69, pp. 97-102, 1994.
- [67] K. Tanaka, T. Ohmori, T. Inoue und S. Seta, „Impurity profiling analysis of illicit methamphetamine by capillary gas chromatography," *Journal of Forensic Sciences*, Bd. 39, Nr. 2, pp. 500-511, 1994.
- [68] V. Puthaviriyakorn, N. Siriviriyasomboon, J. Phorachata, W. Pan-ox, T. Sasaki und K. Tanaka, „Identification of impurities and statistical classification of methamphetamine tablets (YaBa) seized in Thailand," *Forensic Science International*, Bd. 126, Nr. 2, pp. 105-113, 2002.
- [69] J. S. Lee, E. Y. Han, S. Y. Lee, E. M. Kim, Y. H. Park, M. A. Lim, H. S. Chung und J. H. Park, „Analysis of the impurities in the methamphetamine synthesized by three different methods from ephedrine and pseudoephedrine," *Forensic Science International*, Bd. 161, pp. 209-215, 2006.
- [70] L. Strömberg, L. Lundberg, H. Neumann, B. Bobon, H. Huizer und N. W. van der Stelt, „Heroin impurity profiling - A harmonization study for retrospective comparisons," *Forensic Science International*, Bd. 114, Nr. 2, pp. 67-88, 2000.
- [71] A. C. Allen, D. A. Cooper, J. M. Moore, M. Gloger und H. Neumann, „Illicit Heroin Manufacturing Byproducts: Capillary Gas Chromatographic Determination and Structural Elucidation of Narcotine- and Norlaudanosine-Related Compounds," *Analytical Chemistry*, Bd. 56, Nr. 14, p. 2940-2947, 1984.
- [72] I. S. Lurie, „Capillary electrophoresis of illicit drug seizures," *Forensic Science International*, Bd. 92, Nr. 2-3, pp. 125-136, 1998.
-

12 Anhang

Im Folgenden sind die in dieser Arbeit für die Messungen verwendeten Geräte, die zur Datenauswertung verwendete Software, die verwendeten Chemikalien sowie die untersuchten Realproben näher beschrieben. Alle praktischen Arbeiten wurden beim Bundeskriminalamt Wiesbaden im Fachbereich KT 34 (Toxikologie) durchgeführt. Auch kann hier die Liste der für den Metamfetaminmaterialvergleich herangezogenen Targetkomponenten (Kapitel 7) eingesehen werden. Weiterhin sind die Strukturformeln der für den MDMA-Materialvergleich mittels GC-MS relevanten Targetkomponenten sowie die Kalibriergeraden zur Überprüfung des linearen Zusammenhangs zwischen Peakfläche und Konzentration der Analyte für die chirale CE-ESI-MS-Methode dargestellt.

12.1 Geräte

12.1.1 CE-ESI-MS-System I:

Beckman-Coulter P/ACE 5000 CE-Gerät gekoppelt über einen Coaxial Sheath Liquid Sprayer von Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA an ein HCT Plus Ionenfallen Massenspektrometer mit Elektrosprayionisation von Bruker Daltonics, Bremen, Deutschland. Alle Proben wurden über hydrodynamische Injektion bei einem Druck von 3,45 kPa und einer Probeaufgabezeit von 5 Sekunden aufgegeben. Für alle Trennungen wurden unbeschichtete Quarzglaskapillaren von Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA mit einem inneren Durchmesser von 50 µm, einem Außendurchmesser von 360 µm und einer Gesamtlänge von 82 cm verwendet. Zur Konditionierung einer neuen Kapillare wurde diese ohne Verbindung zum Massenspektrometer für 20 Minuten mit Natronlauge (0,1 mol/L), für 5 Minuten mit Wasser, für 10 Minuten mit HCl (0,1 mol/L) und für 20 Minuten mit Pufferlösung gespült. Vor jedem Lauf wurde die Kapillare 2 Minuten mit Puffer gespült, bei Verwendung des Puffers für die chirale Trennung wurde dabei die Hochspannung am MS abgeschaltet um Kontamination desselben mit den dem Laufpuffer zugesetzten Cyclodextrinen zu vermeiden. Elektrosprayionisation (ESI) fand bei 4500 V statt. Das Stickstofftrockengas wurde auf 250 °C erhitzt und mit 4 L/min zugeführt. Der Druck des Zerstäubergases N₂ betrug 4 psi. Das Sheath Liquid (Isopropanol/Wasser 50/50, v/v) wurde mit einer Flussrate von 3 µL/min über eine Spritzenpumpe von Cole-Parmer, Vernon Hill, IL, USA zugeführt. Die ESI-MS-Spektren wurden im Positivionenmodus mit einer Scangeschwindigkeit von

26000 m/z pro Sekunde im Massenbereich von 60-350 m/z und einer Targetmasse von 220 m/z aufgezeichnet.

12.1.2 CE-ESI-MS-System II:

PrinCE 560 CE-System gekoppelt über einen Coaxial Sheath Liquid Sprayer von Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA an ein HCT Plus Ionenfallen Massenspektrometer mit Elektrosprayionisation von Bruker Daltonics, Bremen, Deutschland. Alle Proben wurden über hydrodynamische Injektion bei einem Druck von 30 mbar und einer Probeaufgabezeit von 6 Sekunden aufgegeben. Für alle Trennungen wurden unbeschichtete Quarzglaskapillaren von Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA mit einem inneren Durchmesser von 50 µm, einem Außendurchmesser von 360 µm und einer Gesamtlänge von 70 cm verwendet. Zur Konditionierung einer neuen Kapillare wurde diese ohne Verbindung zum Massenspektrometer für 20 Minuten mit Natronlauge (0,1 mol/L), für 5 Minuten mit Wasser, für 10 Minuten mit HCl (0,1 mol/L) und für 20 Minuten mit Pufferlösung gespült. Vor jedem Lauf wurde die Kapillare 2 Minuten mit Puffer gespült. Elektrosprayionisation (ESI) fand bei 4500 V statt. Das Stickstofftrockengas wurde auf 250 °C erhitzt und mit 4 L/min zugeführt. Der Druck des Zerstäubergases N₂ betrug 4 psi. Das Sheath Liquid (Isopropanol/Wasser 50/50, v/v) wurde mit einer Flussrate von 3 µL/min über eine Spritzenpumpe von Cole-Parmer, Vernon Hill, IL, USA zugeführt. Die ESI-MS-Spektren wurden im Positivionenmodus mit einer Scangeschwindigkeit von 26000 m/z pro Sekunde im Massenbereich von 60-600 m/z und einer Targetmasse von 350 m/z aufgezeichnet.

12.1.3 CE-System:

Beckman-Coulter P/ACE 5510-CE-System ausgestattet mit einem Photodioden-Array-Detektor. Alle Proben wurden mittels hydrodynamischer Injektion bei 3,45 kPa für 3 Sekunden in Screening-Läufen und für 8 Sekunden bei Messungen für den Materialvergleich aufgegeben. Die Detektion erfolgte bei 214 nm mit einer Sampling-Rate von 2 Hz. Eine unbehandelte Quarzglas-Kapillare von Wicom (Heppenheim, D) mit einem inneren Durchmesser von 50 µm, einem äußeren Durchmesser von 360 µm und einer Gesamtlänge von 67 cm kam dabei zum Einsatz. Die effektive Länge zum Detektor betrug 60 cm. Zur Konditionierung wurde eine neue Kapillare für 20 Minuten mit NaOH (0,1 mol/L), für 5 Minuten mit Wasser, für 10 Minuten mit HCl (0,1 mol/L) und für

20 Minuten mit Pufferlösung gespült. Zwischen den Läufen wurde die Kapillare für 2 Minuten mit Laufpuffer durchgespült.

12.1.4 GC-MS-System I

Agilent 6890N Gaschromatograph (Agilent Technologies, Palo alto, CA, USA) gekoppelt an ein 5975 Quadrupol-Massenspektrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Injektionen wurden mit einem Autosampler (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) durchgeführt. Zur Trennung wurde eine DB-35MS-Säule (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm) von Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA) verwendet. Das verwendete Trägergas ist Helium. Die Transferline- und Ionenquellentemperaturen wurden auf 310 °C bzw. 230 °C gesetzt. Die Massenspektren wurden im Massenbereich von 40-300 m/z aufgezeichnet.

12.1.5 GC-MS-System II

Agilent 6890N Gaschromatograph (Agilent Technologies, Palo alto, CA, USA) gekoppelt an ein 5975 Quadrupol-Massenspektrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Injektionen wurden mit einem Autosampler (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) durchgeführt. Zur Trennung wurde eine DB-1MS-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,33 µm) von Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA) verwendet, die mit einer deaktivierten Quarzglasvorsäule mit einer inneren Durchmesser von 250 µm und einer Länge von 2 m verbunden wurde. Das verwendete Trägergas war Helium. Die Trägergasgeschwindigkeit lag bei 31 cm/s (0,6 mL/min, konstante Flussrate). Die Transferline- und Ionenquellentemperaturen wurden auf 310 °C bzw. 230 °C gesetzt. Die Massenspektren wurden im Massenbereich von 35-450 m/z aufgezeichnet.

12.2 Software

Folgende Software kam in dieser Arbeit zum Einsatz:

12.2.1 CE-ESI-MS-System I:

Zur Steuerung des CE-Gerätes wurde die Software Beckman P/ACE Station 1.2 verwendet. Die Daten wurden mit der Software esquireControl™ Version 5.2, Bruker Daltonik GmbH Bremen aufgezeichnet und mit der Software DataAnalysis Version 3.2, Bruker Daltonik

GmbH Bremen, sowie mit Origin Microcal Software inc., Northhampton, USA und Excel 2010, Microsoft Corporation ausgewertet beziehungsweise dargestellt.

12.2.2 CE-ESI-MS-System II:

Zur Steuerung des CE-Gerätes wurde die Software WPrinCE 32 bits verwendet. Die Daten wurden mit der Software esquireControlTM Version 5.2, Bruker Daltonik GmbH Bremen aufgezeichnet und mit der Software DataAnalysis Version 3.2, Bruker Daltonik GmbH Bremen, sowie mit Origin Microcal Software inc., Northhampton, USA, Excel 2010, Microsoft Corporation und der Software ProfileAnalysis Version 1.1, Bruker Daltonik GmbH Bremen ausgewertet beziehungsweise dargestellt.

12.2.3 CE-System:

Zur Datenerhebung und Steuerung des Gerätes wurde die Software Beckman P/ACE Station 1.2 verwendet. Die Daten wurden mit der Software Origin Microcal Software inc., Northhampton, USA dargestellt.

12.2.4 GC-MS-System I:

Zur Datenerhebung und Steuerung des Gerätes wurde die Software MSD ChemStation D.02.00.275 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) verwendet. Die Daten wurden mit der Software MSD ChemStation D.02.00.275 Data Analysis (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), Excel 2010, Microsoft Corporation und der Software Statistica Version 10, Statsoft Inc, Tulsa, USA ausgewertet beziehungsweise dargestellt.

12.2.5 GC-MS-System II:

Zur Datenerhebung und Steuerung des Gerätes wurde die Software MSD ChemStation D.02.00.275 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) verwendet. Die Daten wurden mit der Software MSD ChemStation D.02.00.275 Data Analysis (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), Excel 2010, Microsoft Corporation und der Software Statistica Version 10, Statsoft Inc, Tulsa, USA sowie der Software Matlab (R2008b, MathWorks, Inc, USA) ausgewertet beziehungsweise dargestellt.

12.3 Chemikalien

Folgende Chemikalien wurden in dieser Arbeit verwendet:

Merck, Darmstadt, D:

(±)-Amfetaminsulfat

Phosphorsäure (H₃PO₄)

Kaliumdihydrogenphosphat (KH₂PO₄)

Sigma-Aldrich, Taufkirchen, D:

(±)-Tetramisolhydrochlorid ≥ 99%

(±)-Synephrin ≥ 98%

(±)-Norephedrinhydrochlorid

(-)-Ephedrinhydrochlorid 99%

(-)-N-Methylephedrin ≥ 99%

(+)-N-Methylephedrin ≥ 99%

(-)-Pseudoephedrin ≥ 98%

(+)-Pseudoephedrin ≥ 98%

sulfatiertes beta-Cyclodextrin

Trizma[®] Base ≥ 99,9%

Ethanol (CHROMASOLV[®]) (HPLC grade) 99,8%

Fluka, Buchs, CH:

(+)-Ephedrinhydrochlorid

O-(2-Hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin (Substitutionsgrad 0,5-0,7)

Ameisensäure (1 mol/L in Wasser) (LC-MS grade) ~ 98%

Chininhydrochlorid

KH₂PO₄ ≥ 99,5%

Na₂HPO₄·2H₂O ≥ 99,8%

Eicosan ≥ 99,5%

Nonadecan ≥ 99,8%

Lipomed, Arlesheim, CH:

(±)-Metamfetaminhydrochlorid > 98,5%

(±)-3,4-Methylendioxyamfetaminhydrochlorid > 98,5%

Riedel-de Haën, Seelze, D:

Wasser/2-Propanol (50/50, v/v) (LC-MS grade)

Wasser/Methanol (50/50, v/v) (LC-MS grade)

Wasser/Acetonitril (50/50, v/v) (LC-MS grade)

Hoechst AG, Frankfurt a.M., D:

(±)-Methadonhydrochlorid

REGIS Technologies, Morton Grove, IL, USA:

Heptakis-(2,3-diacetyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin

Heptakis-(2,3-dimethyl-6-sulfato)-beta-cyclodextrin

Acros, Geel B:

Toluol 99,8%

12.4 Proben

Die verwendeten Realproben sowie die MDMA-Fällungsproben (Kapitel 4) wurden vom Bundeskriminalamt Wiesbaden, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Die methadonhaltige Blutprobe für die CE-ESI-MS-Messung (Kapitel 5) stammte vom rechtsmedizinischen Institut der Universität Heidelberg, Deutschland.

Die mittels reduktiver Aminierung mit PtO_2/H_2 synthetisierten MDMA-Proben für die GC-MS-Messungen (Kapitel 4) wurden während eines vorangegangenen Projektes zwischen dem Bundeskriminalamt Wiesbaden (KT 34) und der Universität Tübingen hergestellt und ebenfalls vom Bundeskriminalamt Wiesbaden zur Verfügung gestellt.

Die mittels reduktiver Aminierung mit Natriumborhydrid bzw. Aluminiumamalgam synthetisierten MDMA-Proben für die GC-MS-Messungen (Kapitel 4) wurden im Rahmen dieser Arbeit hergestellt.

Das zur Herstellung der Probenlösungen bzw. des Laufpuffers verwendete destillierte Wasser wurde in einer Milli-Q-Anlage hergestellt.

Die Probenvorbereitung ist jeweils in den entsprechenden Kapiteln beschrieben.

12.5 Targetliste für das Metamfetaminprofiling mittels GC-MS

Im Folgenden sind die für das in Kapitel 7 verwendete GC-MS-Verfahren für das chemische Profiling von Metamfetamin verwendeten Targetkomponenten aufgeführt.

Tabelle 12.1 : Targetkomponenten für Metamfetaminprofiling

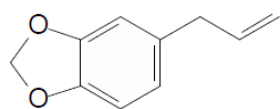
Name
cis-1,2-Dimethyl-3-phenyl-aziridin
Ephedron
Ephedrin
Pseudoephedrin
para-t-Butylmetamfetamin
N-Formylmetamfetamin
N-Acetylmetamfetamin
1,3-Diphenyl-2-propylmethylamin
N,N-Di(betaphenylisopropyl)amfetamin 1 *
N,N-Di(betaphenylisopropyl)amfetamin 2 *
alpha-Methyldiphenylethylamin
3,4-Diphenyl-3-buten-2-on
N,N-Di(betaphenylisopropyl)metamfetamin 1 *
N,N-Di(betaphenylisopropyl)metamfetamin 2 *
Unknown 58d **
1-Benzyl-3-methylnaphtalen
Metamfetamindimer
1,3-Dimethyl-2-phenylnaphtalen
Benzoylmetamfetamin
2,6-Di-Me-3,5-diphenylpyridin
Pyridin 7 und 14 **
2-Oxo-Metamfetamin
Unknown 58-190 **
cis-Cinnamoylmetamfetamin

* Diastereomere

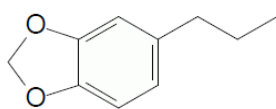
** Nicht bzw. nicht vollständig identifizierte Targetkomponenten

12.6 Strukturformeln der für den MDMA-Materialvergleich mittels GC-MS relevanten Targetkomponenten

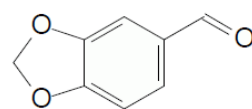
Im Folgenden sind die Strukturformeln der identifizierten Targetkomponenten aufgeführt, die für den Materialvergleich von MDMA mittels GC-MS (CHAMP-Methode) relevant sind.



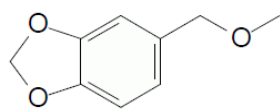
Safrol



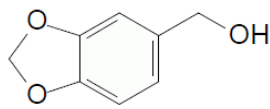
1-(3,4-MD-phenyl)propan



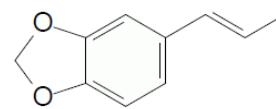
Piperonal



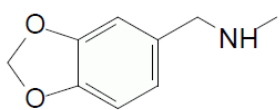
Piperonyl-methyl-ether



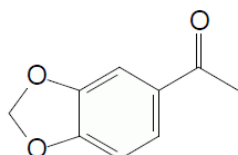
3,4-MD-Phenylmethanol



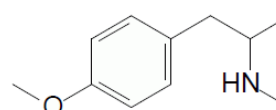
Isosafrol-2



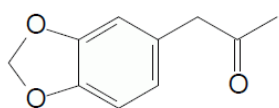
N-methyl-3,4-MD-benzylamin



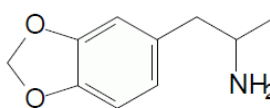
3,4-MD-acetophenon



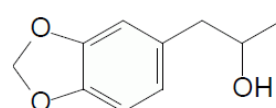
para-Methoxy-MA



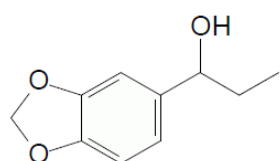
3,4-MD-phenyl-2-propanon



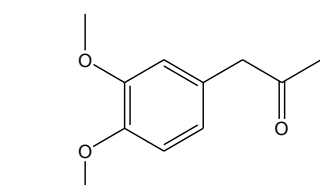
MDA



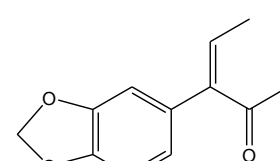
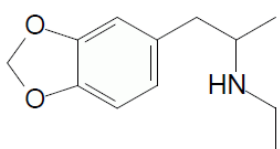
3,4-MD-phenyl-2-propanol



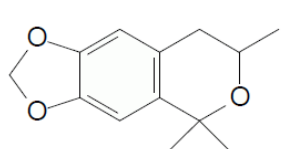
3,4-MD-phenyl-1-propanol



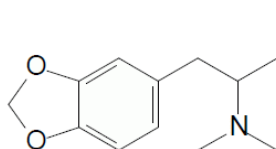
3,4-Dimethoxy-benzylmethylketon

3-(3,4-MD-phenyl)-3-buten-2-on
(Unknown-147)

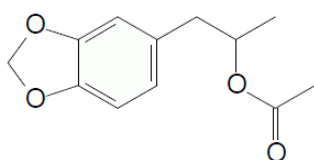
MDEA



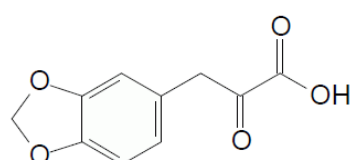
Trimethyl-3,4-MD-chroman



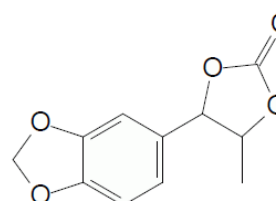
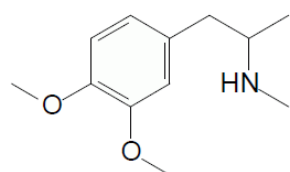
Dimethyl-MDA



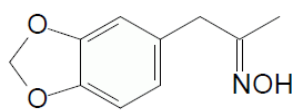
2-(3,4-MD-phenyl)-1-methylethylacetat



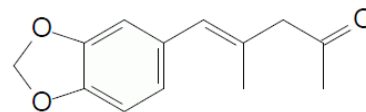
3-(3,4-MD-phenyl)-2-oxopropansäure

4-(3,4-MD-phenyl)-5-methyl-
1,3-dioxolan-2-on

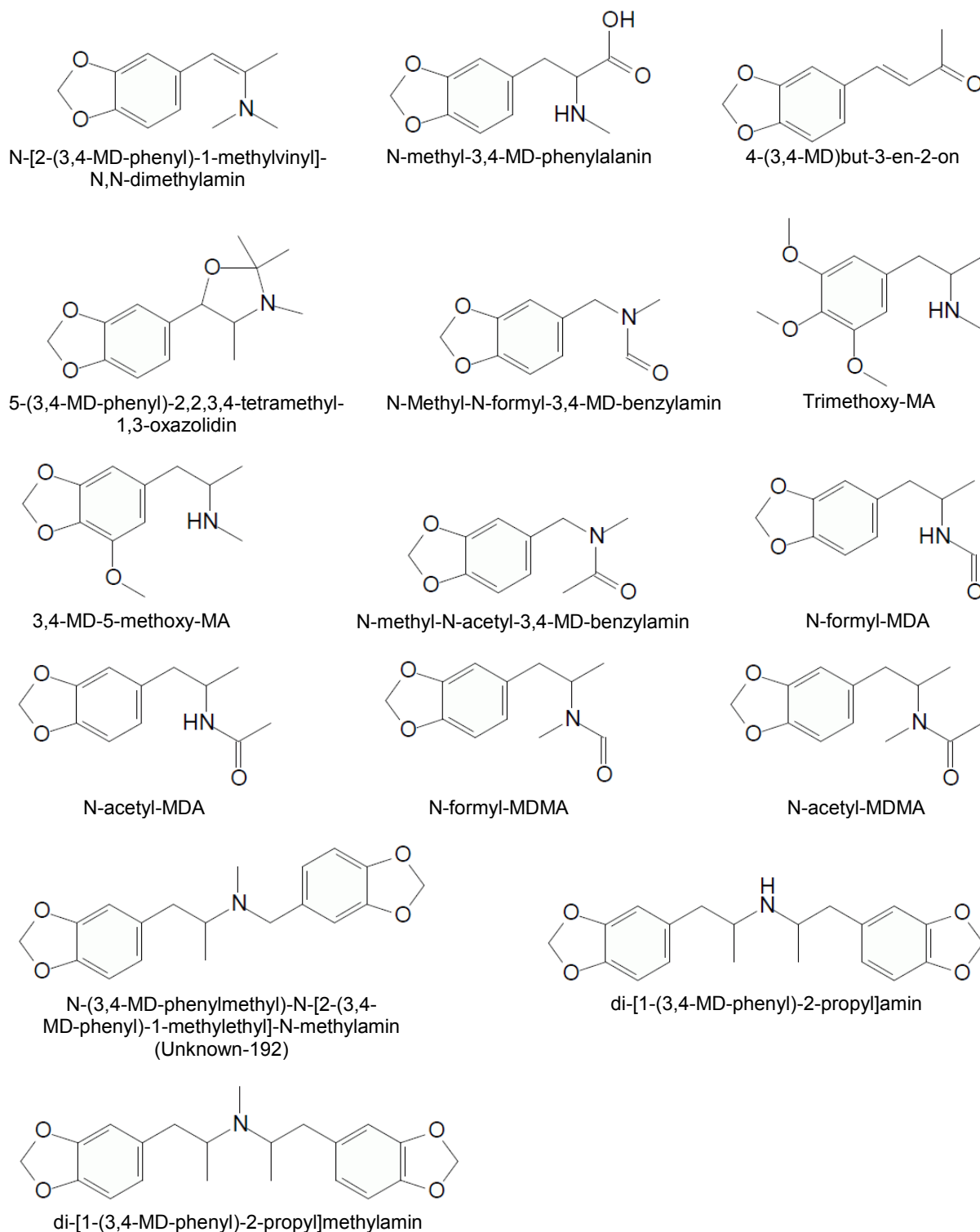
3,4-Dimethoxy-MA



3,4-MD-benzylmethylketoxim



5-(3,4-MD-phenyl)-4-methylpent-4-en-2-on



12.7 Kalibriergeraden zur Linearitätsüberprüfung für die chirale CE-ESI-MS-Methode

Im Folgenden sind die Kalibriergeraden zur Überprüfung des linearen Zusammenhangs zwischen den Peakflächen und der Analytkonzentration für die chirale CE-ESI-MS-Methode dargestellt.

Für (+)-Synephrin und (-)-Synephrin wurde bei der Erstellung der Geraden der Wert für die Peakfläche bei einer Analytkonzentration von 350 µmol/L und bei (+)-Ephedrin und (-)-Ephedrin der Wert für die Peakfläche bei einer Analytkonzentration von 250 µmol/L herausgenommen, da es sich jeweils um einen Ausreißer handelt. Dies wurde durch die Durchführung eines Ausreißertests mittels F-Test der Reststreuung bewiesen. Für den Test wurde zunächst aus allen Wertepaaren die Kalibriergerade mit der Reststandardabweichung $s_{y_{A1}}$ berechnet. Nach der Eliminierung des verdächtigen Ausreißerpaares wurde die neue Kalibriergerade mit der Reststandardabweichung $s_{y_{A2}}$ berechnet. Nach Gleichung 12.1 ergibt sich der Prüfwert.

$$PW = \frac{(N_{A1} - 2)s_{y_{A1}}^2 - (N_{A2} - 2)s_{y_{A2}}^2}{s_{y_{A2}}^2} \quad \text{Gleichung 12.1}$$

Legende:

- $s_{y_{A1}}$: Reststandardabweichung für Kalibrierfunktion mit allen Werten
- $s_{y_{A2}}$: Reststandardabweichung für Kalibrierfunktion ohne ausreißerverdächtigen Wert
- N_{A1} : Anzahl aller Werte
- N_{A2} : Anzahl ohne ausreißerverdächtigen Wert

Für (+)-Ephedrin ergab sich ein Prüfwert von 32,61, für (-)-Ephedrin ein Wert von 15,11, für (+)-Synephrin ein Wert von 73,31 und für (-)-Synephrin ein Wert von 37,99.

Diese Werte wurden mit dem entsprechenden Wert aus der F-Tabelle für $f_1=1$ verglichen. Dieser lautet $F(f_1=1, f_2=N_{A2}-2 = 10-2=8, P = 95\%) = 5,32$. Da alle vier Prüfwerte größer als der F-Wert sind, handelt es sich in allen vier Fällen um Ausreißer.

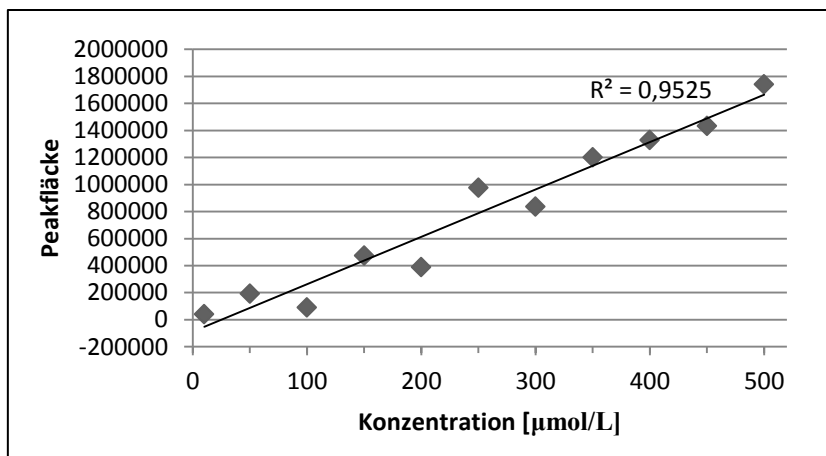


Abbildung 12.1: Kalibriergerade (–)-Norephedrin

Trennbedingungen: Injektion: 5s bei 3,45 kPa; Kapillare: Länge: 82 cm, Innendurchmesser: 50 µm; Temperatur: 20 °C; Hochspannung: + 25 kV; Trennpuffer: 1 mol/L Ameisensäure + 1 mmol/L 2,3-Dimethyl-6-sulfato-beta-Cyclodextrin + 10 mmol/L 2-Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin;

Massenspektrometereinstellungen: Hilfsfluss: 2-Propanol/Wasser (50/50 v/v); Hilfsflussrate: 3 µL/min; Nebulizerdruck: 4 psi, Trockengastemperatur: 250 °C; Trockengasflussrate: 4 L/min; Targetmasse: 220 m/z

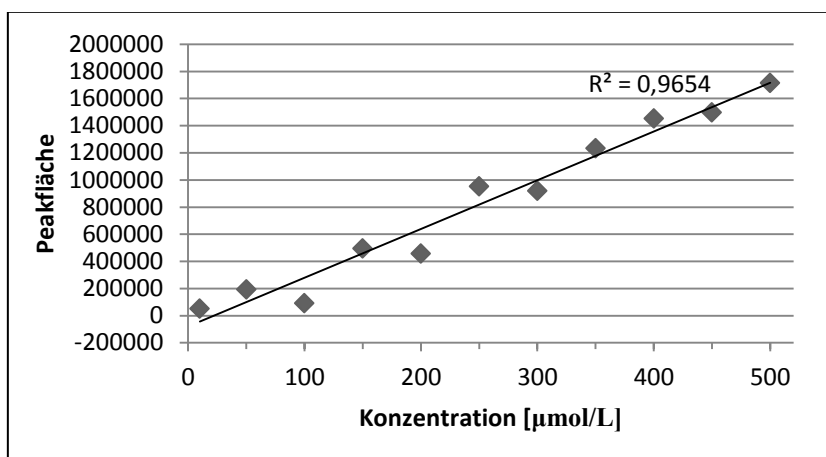


Abbildung 12.2: Kalibriergerade (+)-Norephedrin

Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

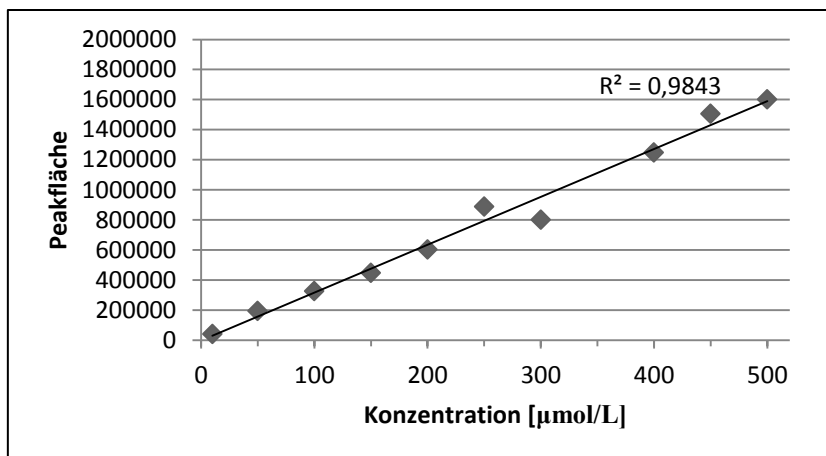


Abbildung 12.3: Kalibriergerade (-)-Synephrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

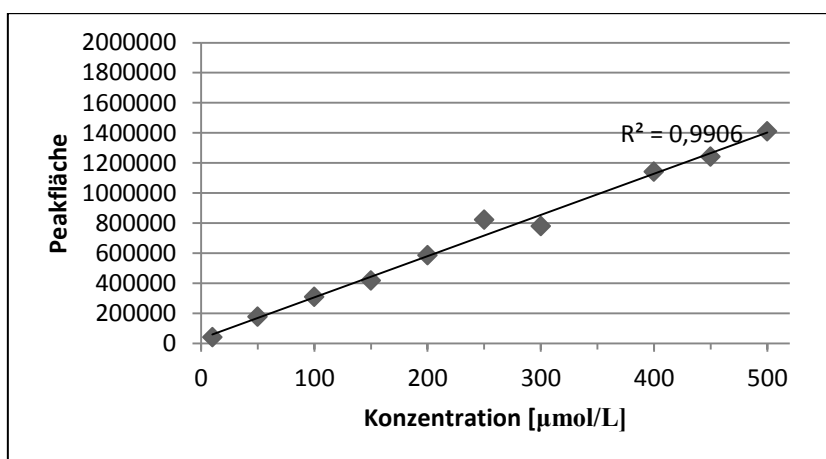


Abbildung 12.4: Kalibriergerade (+)-Synephrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

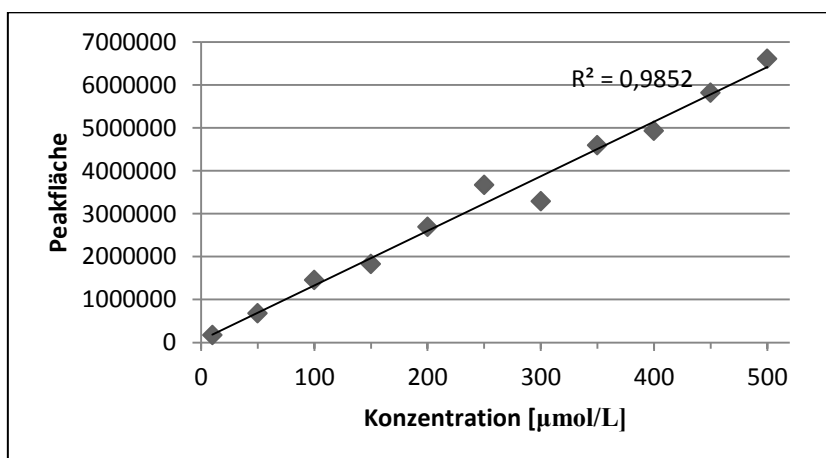


Abbildung 12.5: Kalibriergerade (-)-Metamfetamin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

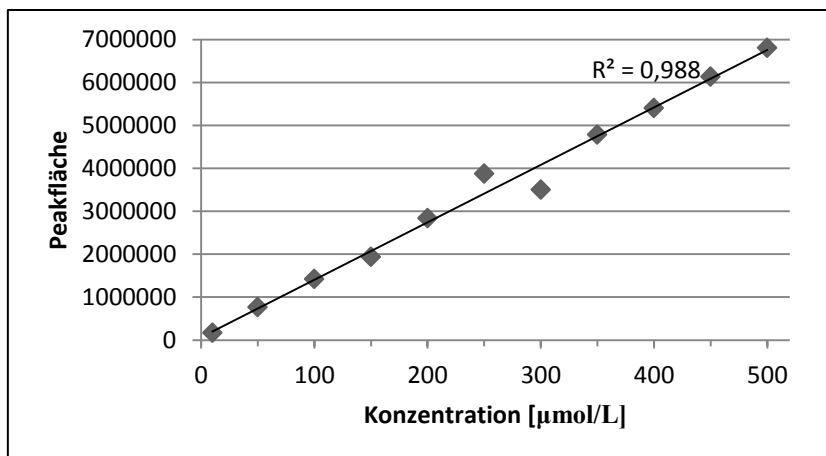


Abbildung 12.6: Kalibriergerade (+)-Metamfetamin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

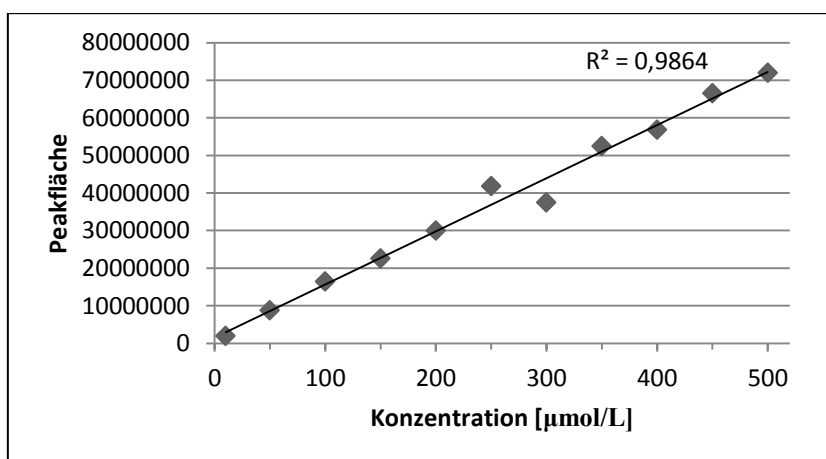


Abbildung 12.7: Kalibriergerade (-)-Methadon
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

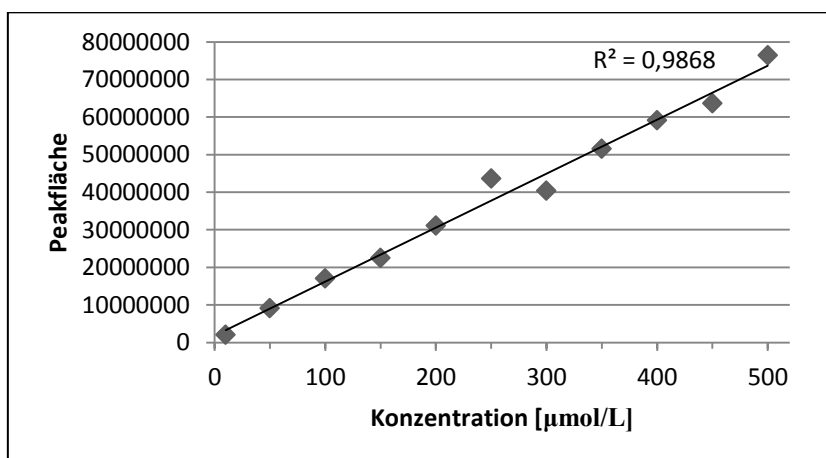


Abbildung 12.8: Kalibriergerade (+)-Methadon
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

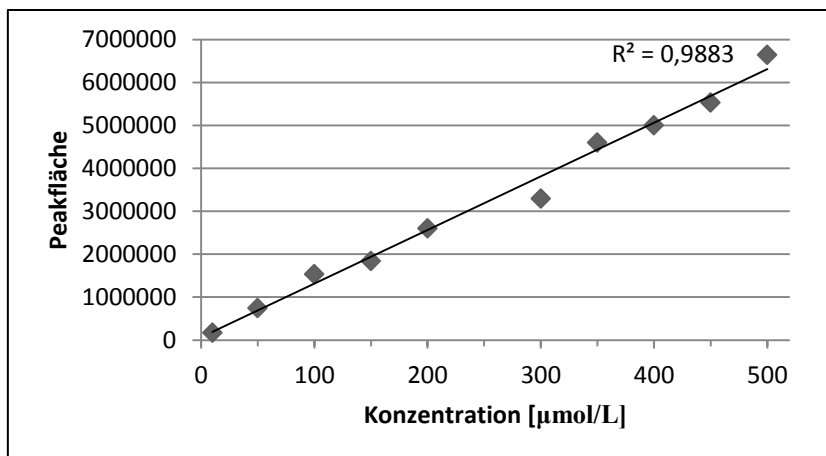


Abbildung 12.9: Kalibriergerade (-)-Ephedrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

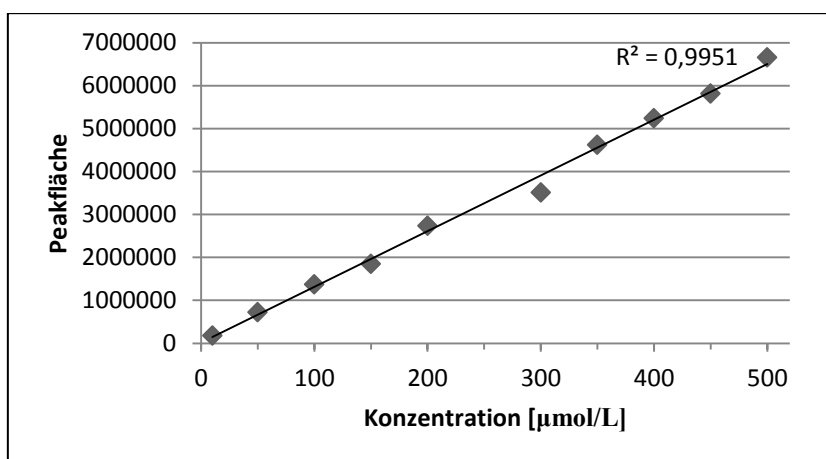


Abbildung 12.10: Kalibriergerade (+)-Ephedrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

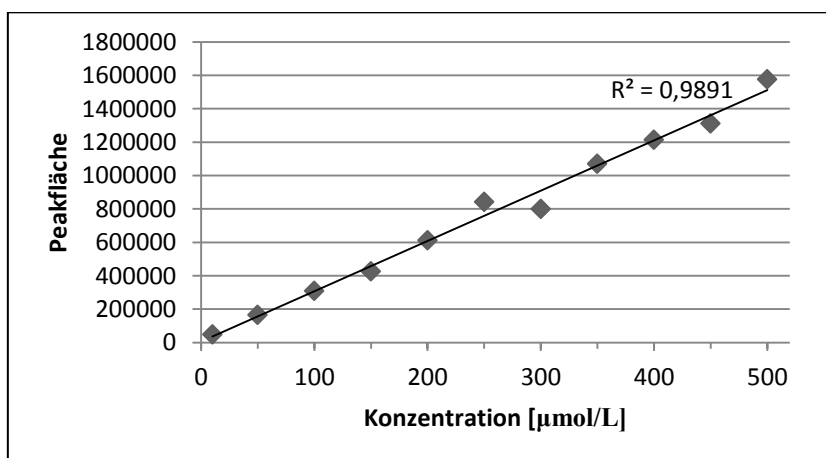


Abbildung 12.11: Kalibriergerade (-)-Amfetamin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

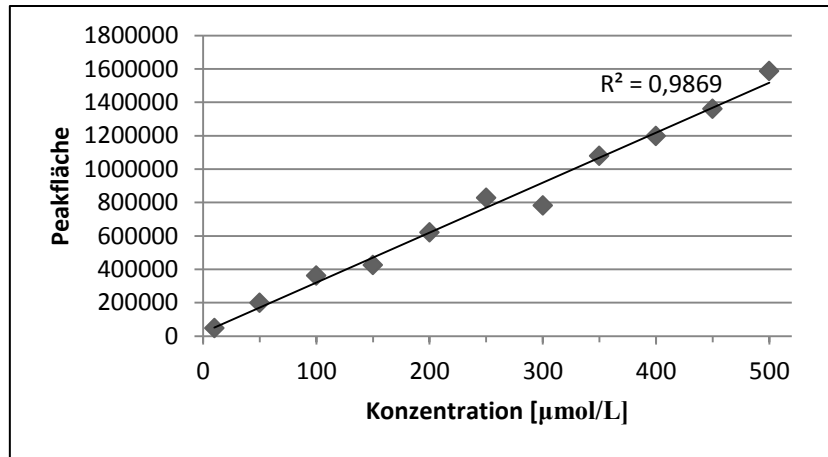


Abbildung 12.12: Kalibriergerade (+)-Amfetamin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

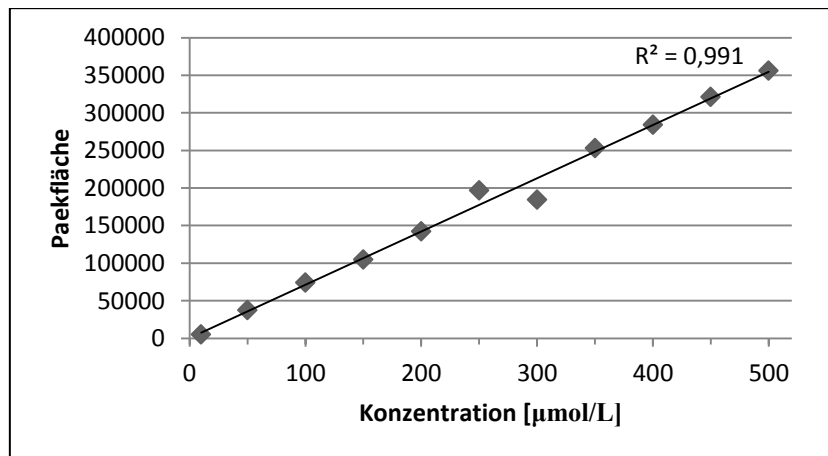


Abbildung 12.13: Kalibriergerade Bezylamin (ISTD)
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

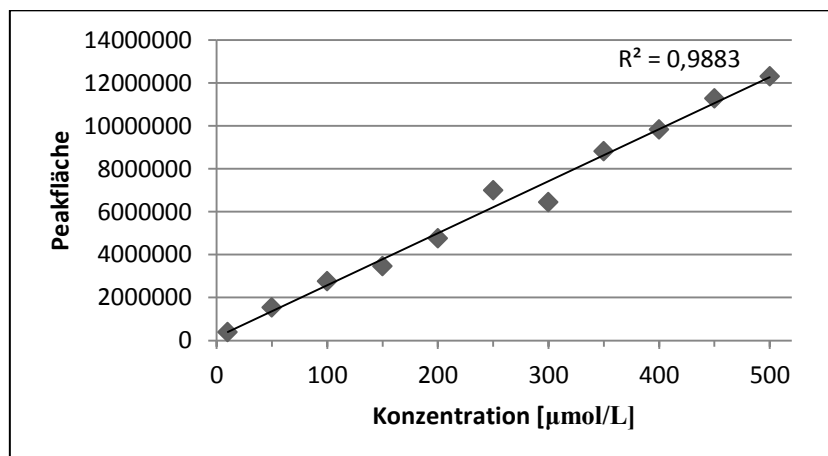


Abbildung 12.14: Kalibriergerade (-)-Tetramisol
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

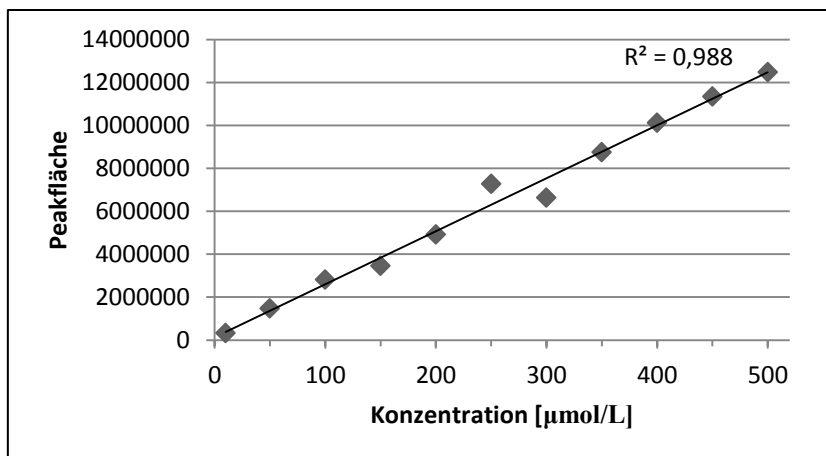


Abbildung 12.15: Kalibriergerade (+)-Tetramisol
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

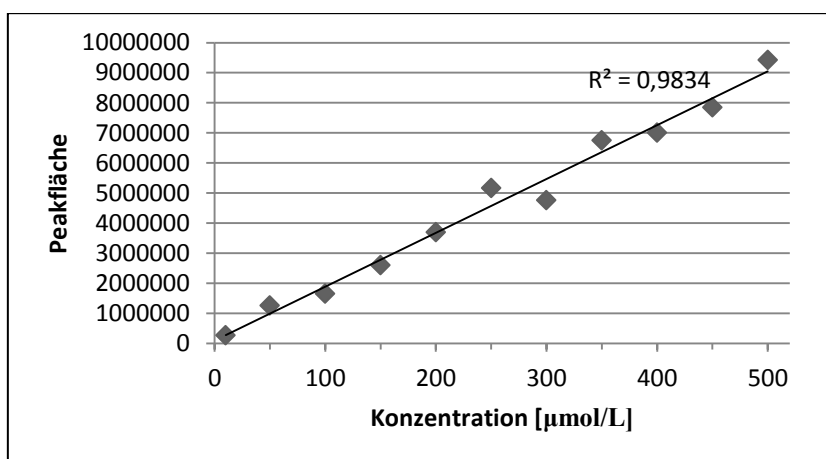


Abbildung 12.16: Kalibriergerade (-)-N-Methylephedrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

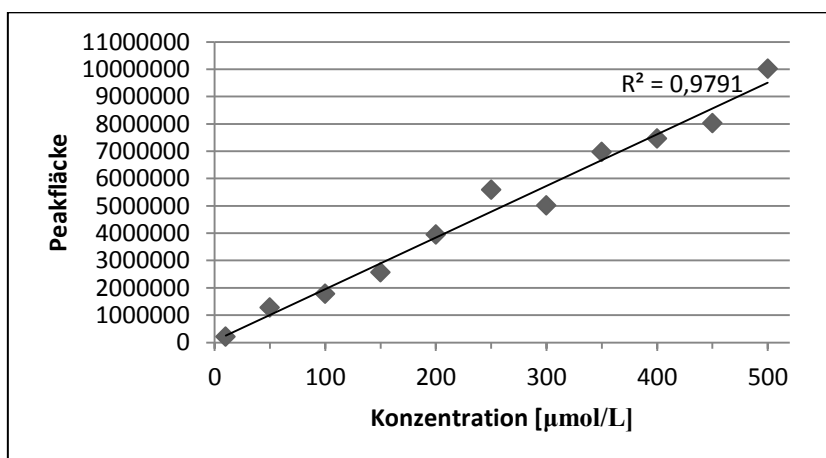


Abbildung 12.17: Kalibriergerade (+)-N-Methylephedrin
Messbedingungen siehe Abbildung 12.1

13 Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. Ute Pyell für Ihre Bereitschaft, die Betreuung dieser Dissertation zu übernehmen, sowie für die gewährten Freiheiten in der Durchführung dieser Arbeit und die freundliche Unterstützung und Geduld ganz herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. Jungclas danke ich für die Bereitschaft die Absicherung der Betreuung der Dissertation zu übernehmen sowie Frau Prof. Dr. Céline Weyermann für die Übernahme der Zweitgutachtertätigkeit und Herrn Prof. Dr. Norbert Hampp für die Anfertigung des Drittgutachtens.

Großer Dank gilt auch den ehemaligen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe in Marburg, besonders Carolin Huhn für schöne Stunden und gute Diskussionen. Auch Azza H. Rageh und Alaa H. Jalil aus meinem Arbeitskreis möchte ich für die tolle Kollegialität und Hilfsbereitschaft ganz herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Dahlenburg und Herr Dipl.-Chem. Michael Pütz, ohne die die Verwirklichung meiner Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre. Besonders hervorheben möchte ich das große Engagement von Michael Pütz, der auf meine vielen Fragen und Probleme immer eine Antwort wusste. Ich danke ihm recht herzlich für seine investierte Zeit, sein unermüdliches Interesse, seine Diskussionsbereitschaft und die vielen konstruktiven Gespräche.

Dem Bundeskriminalamt Wiesbaden danke ich für die Finanzierung dieser Arbeit sowie für die Bereitstellung aller notwendigen Ressourcen. Weiterhin danke ich dem 6. Framework-Programm der europäischen Kommission (Vertrag Nr. 502126) für die Finanzierung des EU-Projektes CHAMP und somit auch der Finanzierung dieser Dissertation.

Weiterhin möchte ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Fachbereichs KT 34 für ihre freundliche Aufnahme und stetige Hilfsbereitschaft und Unterstützung sowie die immer gute Zusammenarbeit danken. Auch den Doktoranden des Fachbereichs KT 34 Jan Rittgen und Christoph Härtel danke ich für die gute Zusammenarbeit und stete Hilfsbereitschaft.

Herrn Dr. Biermann danke ich für die Befürwortung dieser Arbeit auch während meiner Schwangerschaft.

Für die tolle Unterstützung im Bereich der GC danke ich Thorsten Rößler und Alexandra Hasselbach-Minor. Nathalie Martin danke ich besonders für ihre Unterstützung bei der Synthese der MDMA Proben mittels reduktiver Aminierung mit Natriumborhydrid beziehungsweise Aluminiumamalgam, aber auch für ihre Hilfsbereitschaft im Bereich der CE.

Trudel Schirren und Carmen Bender danke ich für die Durchführung der HPLC-Messungen und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern von KT 12 für die Durchführung der NMR-Messungen zur Reinheitsüberprüfung der selbst synthetisierten MDMA-Proben.

Erik Krupika und Nathalie Martin gilt mein Dank für die Durchführung der Fällungen der MDMA-Basen zu MDMA-Hydrochlorid.

Auch meinen ehemaligen Fahrgemeinschaftsmitgliedern, meinen ehemaligen Zimmerkolleginnen und -kollegen sowie den Mitgliedern der Mittagskaffeerunde und weiteren Pausenrunden möchte ich für schöne Zeiten ganz herzlich danken.

Marion Schäffer vom Helmholtz-Zentrum München möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich für die tolle Zusammenarbeit und die Durchführung der zweidimensionalen GC-Messungen danken.

Herrn Dr. Timo Kohles danke ich für die Synthese der MDMA-Proben über reduktive Aminierung mit Platinoxid/H₂ im Rahmen eines vorangegangenen Projektes zwischen dem Bundeskriminalamt Wiesbaden und der Eberhard-Karls-Universität Tübingen.

Weiterhin gilt allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern des EU-Projektes CHAMP mein besonderer Dank für die tolle gemeinsame Zeit. Besonders hervorheben möchte ich die hervorragende Einführung in die GC-MS-Methode für den Materialvergleich von MDMA durch Eric Lock. Vielen Dank dafür!

Herrn Prof. Dr. Christian Neusüß danke ich für die sehr gute Einführung in die CE-ESI-MS sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern von Bruker, insbesondere Frau Dr. Gabriela Zurek, für den freundlichen Support bezüglich der Software ProfileAnalysis.

Ein großes Dankeschön gilt auch meinen Freunden und meiner Familie, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen. hier sei besonders Nicole hervorgehoben, die unermüdlich im Korrekturlesen englischer Texte war, sowie Andy und meine Schwiegereltern, die mich ebenfalls beim Korrekturlesen unterstützten.

Meinen Eltern bin ich ebenfalls sehr dankbar, dass sie immer für mich da sind und mich unterstützen, wo sie nur können.

Nicole, Andreas, Kilian und Marius ein großes Dankeschön für die Beherbergung von Kolja während arbeitsreicher Zeiten.

Herrn Prof. Dr. Kümmel gilt mein besonderer Dank für seine sehr hilfreiche Unterstützung und schnelle Korrekturlesung dieser Arbeit.

Zu guter Letzt darf natürlich meine kleine Familie mit Felix und Kolja nicht fehlen, ohne die mein Leben nur halb so schön wäre. Vielen Dank, dass es euch gibt!

14 Wissenschaftlicher Werdegang

Susanne Dieckmann

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen herausgenommen.

